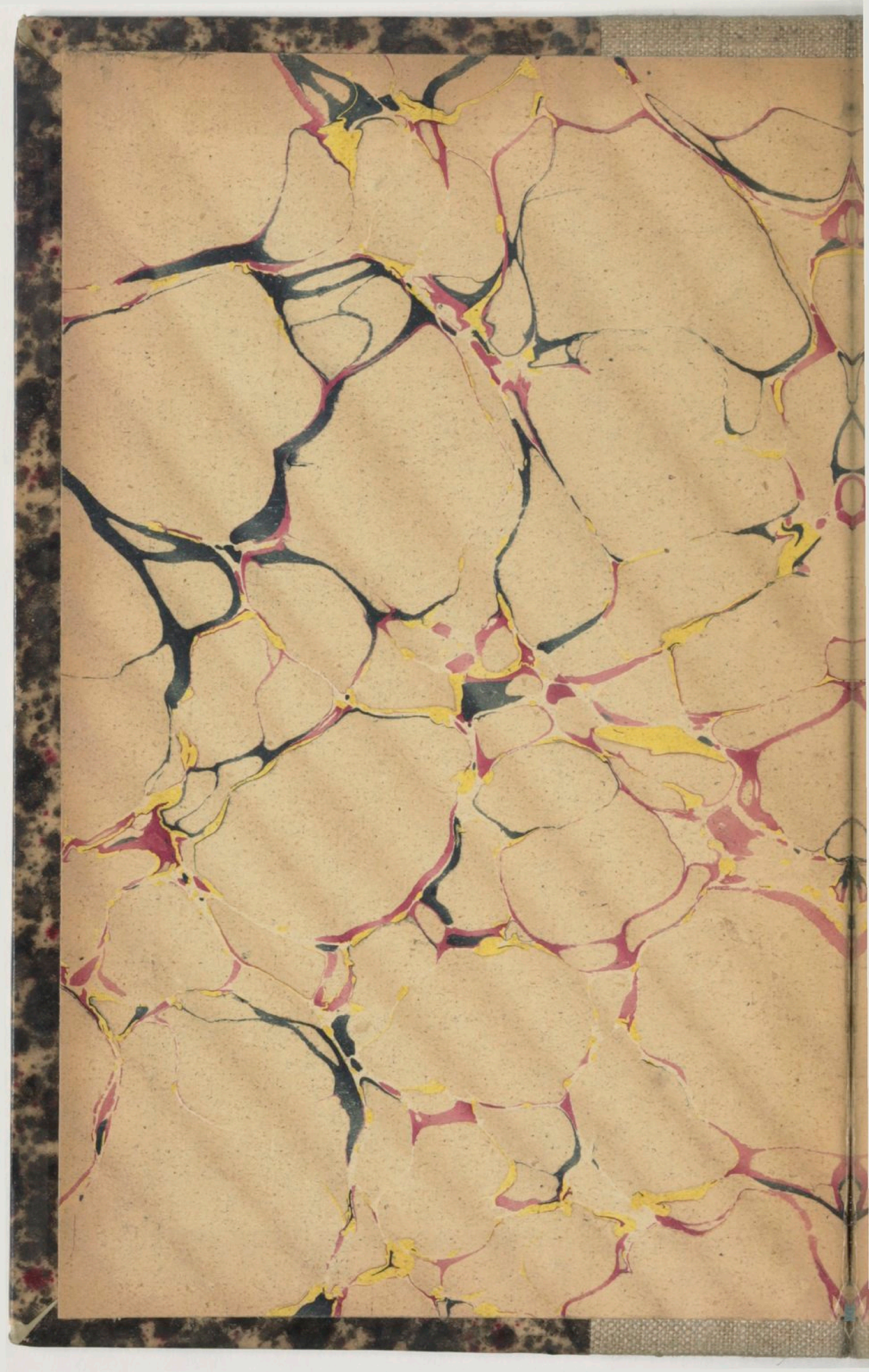


Précis d'analyse microbiologique des eaux...



Roux, Gabriel (Dr). Précis d'analyse microbiologique des eaux.... 1892.







PRÉCIS

D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE

DES EAUX

TRAVAUX DU MÊME AUTEUR

Notes anatomiques sur la bouche de l'oursin commun (Ann. de la Soc. Physioph. de Lyon, n° 1, 1872).
Note sur les mouvements des carpelles de l'*Erodium ciconium*, Wild (Ann. de la Soc. botanique de Lyon, 1873).
Etude sur l'embrasement des vapeurs d'éther (Th. inaug. Lyon, 1879).
Note sur un cas de guérison d'étranglement interne, etc. (Lyon méd, 1883).
Coup d'œil géologique sur le canton d'Ardes-sur-Couze (Ann. de la Soc. Linnéenne de Lyon, 1884).
Sur une épidémie de fièvre typhoïde à 1000 mètres d'altitude (Lyon méd, 1885).
Sur la cystite et la néphrite produites par le *Micrococcus ureæ* en collab. avec M. le professeur Lépine (Compt. rend. Acad. sciences, 1885).
Sur un procédé de diagnose des Gonocoques (Compt. rend. Acad. sc., 1886).
Sur une épidémie de fièvre typhoïde le long d'un cours d'eau (Province médicale, 1887).
Sur un abcès provoqué par le *Bacille d'Eberth*, en collaboration avec M. le Dr Vinay (Province médicale, 1888).
Sur les microorganismes des méningites cérébro-spinales (Bull. méd., 1888).
De l'emploi du Touraillon en bactériologie (Société de biologie, 1889).
De l'action de l'acétalénide sur quelques microbes (Revue de médecine, 1887, dans article de M. Lépine).
Sur une mycose expérimentale due au champignon du muguet, en collab. avec M. le Dr Linossier (Lyon médical, 1889).
Infection d'origine alimentaire; présence exclusive du *B. coli communis* dans l'intestin, en collaboration avec M. le Dr Weill (Prov. méd., 1889).
Fièvre typhoïde, bacille d'Eberth et *Bacillus coli communis*, en collab. avec M. le Dr Rodet (Société de biologie, 1890).
Recherches morphologiques et biologiques sur le champignon du muguet (1er et 2e mémoires), en collab. avec M. le Dr Linossier (Arch. méd. expér., 1890).
Sur la fermentation alcoolique et la transformation de l'alcool en aldéhyde provoquée par le champignon du muguet, en collab. avec M. le Dr Linossier (Compt. rend. Acad. sciences, 1890).
Sur un cas de dystocie par antéversion (Soc. des sciences médicales de Lyon, 1889).
Programme des analyses microbiologiques des eaux de la ville de Lyon (Soc. nationale de médecine de Lyon, 1890).
Premier rapport technique sur l'analyse microbiologique des eaux de la ville de Lyon (Publications de la ville de Lyon, 1890).
Recherches morphologiques sur le sang leucémique et la substance chromatique des noyaux des leucocytes (avec planche. Province médicale, 1890).
De la présence du *Bacille d'Eberth* dans le sang des taches rosées chez un typhique (Province médicale, 1890).
Sur un cas d'adénie infectieuse due au *Staphylococcus pyogenes aureus*, en collab. avec le Dr Lannois (Revue de médecine, 1890).
De l'action microbicide du bouillon de touraillon sur le bacille du choléra asiatique (Province médicale, 1890).
Sur un cas d'endocardite infectieuse transmise expérimentalement au lapin, en collaborat. avec M. le Dr Josserand (Soc. des sc. médic. de Lyon, 1891).
Sur les microorganismes trouvés dans le sang des grippés, en collab. avec MM. le professeur J. Teissier et Pittion (Soc. des sc. méd. de Lyon. 1891).
La défense sanitaire des villes, les bureaux d'hygiène, conférence faite au Palais Saint-Pierre (Province médic., 1891).

Lyon. — Imp. PITRAT AINÉ, A. Rey successeur, 4, rue Gentil. — 3143.

PRÉCIS
D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE
DES EAUX

Suivi de la description sommaire et de la diagnose

DES ESPÈCES BACTÉRIENNES DES EAUX

PAR

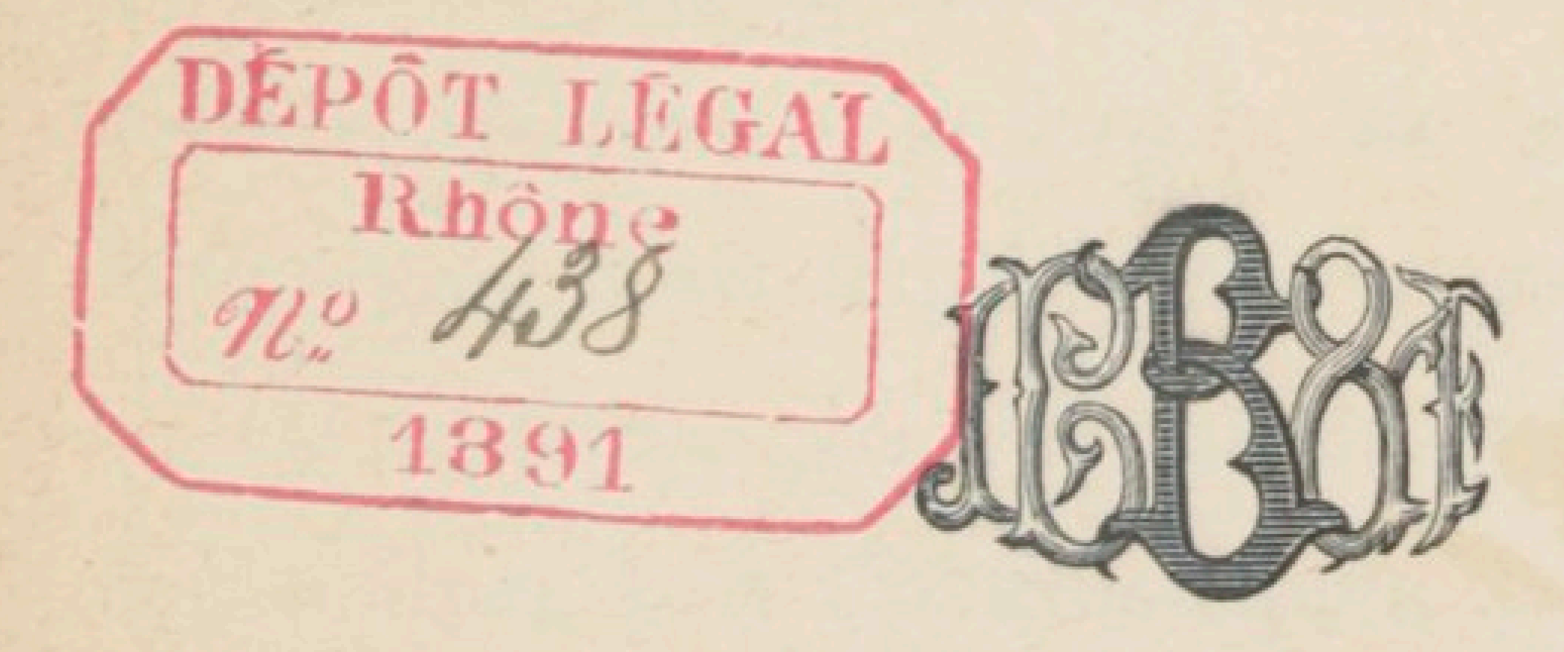
LE Dr GABRIEL ROUX

DIRECTEUR DU BUREAU MUNICIPAL D'HYGIÈNE DE LA VILLE DE LYON
CHEF DES TRAVAUX DE CLINIQUE MÉDICALE A LA FACULTÉ DE MÉDECINE
PRÉSIDENT DE LA SOCIÉTÉ BOTANIQUE DE LYON

Précédé d'une lettre de M. le professeur ARLOING

Correspondant de l'Institut (Académie des Sciences)

Avec 73 figures intercalées dans le texte



PARIS
LIBRAIRIE J.-B. BAILLIÈRE ET FILS
19, RUE HAUTEFEUILLE, PRÈS DU BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1892

A MONSIEUR LE DOCTEUR G. ROUX

Directeur du Bureau d'Hygiène de la ville de Lyon
Chef des travaux du Laboratoire de clinique médicale à la Faculté de Médecine.

CHER COLLÈGUE,

Vous m'avez demandé de présenter aux lecteurs votre *Précis d'analyse microbiologique des eaux*.

En cédant à votre démarche, dont je sens tout l'honneur, j'ai la conviction de remplir une tâche inutile. Qu'avez-vous besoin de recommandations ? Votre nom n'est-il pas connu et connu avantageusement des personnes qui s'intéressent à la bactériologie ainsi qu'à l'hygiène publique et privée? Les recherches que vous avez faites dans les deux cliniques médicales auxquelles vous fûtes et êtes encore attaché, les missions qui vous ont été confiées par M. le Maire de Lyon, concernant les

eaux de la ville, et dont vous vous êtes acquitté avec succès, vous ont bien préparé à écrire ce livre et à l'imprégner d'originalité.

Le point d'hydrologie que vous abordez a passionné tout à la fois le grand public et le monde médical et administratif. Comme on le voit d'ordinaire à l'apparition d'une notion nouvelle, on ne tarda pas à exagérer la portée des analyses microbiologiques. Une réaction survint, si bien qu'aujourd'hui les personnes qui, par état, s'occupent de cette question se partagent en deux camps : dans l'un, on est toujours disposé à attacher une grande signification au nombre des microbes présents dans une eau potable ; dans l'autre, on est presque tenté de regarder les analyses comme superflues et leurs résultats comme des documents de pure curiosité.

Vous avez le mérite de vous jeter dans la mêlée sans parti pris.

Je ne saurais trop vous féliciter d'éclairer réellement et sérieusement le public sur la valeur de l'étude bactériologique des eaux.

Vous dites excellemment que la qualité des microbes contenus dans l'eau serait plus intéressante à connaître que le nombre. Mais, en présence des

difficultés que l'on éprouve actuellement à déterminer tous les microbes que l'on parvient à cultiver, vous reconnaissez quelques mérites aux analyses quantitatives.

Il ne faut pas oublier que la question de la pureté des eaux se présente sous deux aspects à la sagacité de l'hygiéniste. Tantôt l'analyse décide du choix d'une eau potable, tantôt elle éclaire sur la part qui incombe à une eau suspecte dans le développement d'une maladie.

Dans le premier cas, vous avez raison d'avancer que la numération des microbes (espèces ou individus) offre un intérêt de premier ordre. C'est elle, en effet, qui nous renseigne sur les qualités ou les défectuosités de la masse filtrante d'où procèdent les eaux soumises à l'étude.

Il est bien évident que la présence de nombreux microbes vulgaires dans une eau potable dénote des communications trop faciles avec des foyers de matières organiques en décomposition. Elle nous avertit qu'en certains points la surface du sol, constamment exposée aux souillures, est constamment exposée aussi à les céder à la nappe souterraine par l'intermédiaire des eaux pluviales.

J'irai plus loin et j'ajouterai que l'analyse quantitative ne cessera pas d'être importante, malgré les progrès que réalisera l'analyse qualitative, car il faudra toujours compter avec la mutabilité de la propriété des microbes. Inoffensifs sous un certain état, des bacilles ou des microcoques peuvent tout à coup, dans un milieu convenable, acquérir des qualités malfaisantes. Or, étant donnée cette perspective toujours menaçante, une eau sera d'autant plus suspecte qu'elle renfermera un plus grand nombre de germes quelconques.

Il sera donc constamment préférable de choisir une eau pauvre en microbes.

Ces assertions ne se proposent pas d'affaiblir l'importance des analyses qualitatives. Je reconnais que dans le second cas signalé précédemment, lorsqu'on veut chercher la participation de l'eau potable dans l'apparition et l'extension d'une maladie infectieuse, ces analyses seules ont de l'intérêt.

Par conséquent, à mon avis, les deux sortes d'analyses ont leur valeur et leurs indications, et se prêtent un mutuel appui.

Vous l'avez, du reste, parfaitement compris ; car, à la suite des chapitres traitant des généralités et de

la culture des microbes, de la récolte des échantillons d'eau, vous vous étendez longuement sur les procédés de numération et sur la détermination spécifique des colonies. Mais vous avouez franchement que l'analyse qualitative est encore dans l'enfance.

On doit vous savoir gré de cet aveu sincère et des efforts que vous déployez pour faire saisir les moyens et la voie que l'on devrait suivre pour perfectionner nos connaissances.

Dans l'intention de simplifier la besogne de ceux qui vous suivront, vous avez rassemblé et groupé méthodiquement les documents épars sur les caractères des microbes observés par les bactériologistes qui se sont occupés de l'analyse des eaux, dans différentes contrées.

C'était un travail assez ingrat devant lequel vous n'avez pas reculé, afin que le titre de votre ouvrage ne cèle pas de vaines promesses.

J'ajouterai que j'ai retrouvé dans ce livre le cachet de toutes vos productions : sobriété du style, netteté des idées, comparaisons heureuses et frappantes, méthode parfaite dans la distribution des matières.

Aussi terminerai-je en vous assurant que la lecture de votre *Précis d'analyse microbiologique*

des eaux m'a causé une vive satisfaction. Je n'hésite pas à déclarer que ce volume est une œuvre savante, sortie de la plume d'un expérimentateur éprouvé, et qu'il sera consulté avec profit par toutes les personnes qui voudront faire des analyses ou se mettre au courant de la question.

Agréez, mon cher Collègue, l'expression de mes vœux pour le succès de votre livre et celle de mes sentiments les plus dévoués.

ARLOING,
Correspondant de l'Institut.
Professeur à la Faculté de Médecine,
et Directeur de l'École Vétérinaire de Lyon.

AVANT-PROPOS

L'eau joue un rôle biologique trop général et trop important, ses relations avec certaines maladies infectieuses et avec l'hygiène publique et privée sont aujourd'hui trop connues pour que, malgré les imperfections de la technique, un *Précis d'analyse microbiologique des eaux* ne puisse prendre place à l'heure actuelle dans la bibliothèque des laboratoires de recherches.

L'analyse biologique est, je le montrerai, le complément indispensable de toute analyse chimique d'une eau destinée à l'alimentation, soit qu'on désire simplement savoir si ce liquide est suffisamment pur et bien filtré, soit qu'on veuille, au cours d'une épidémie, se rendre compte du rôle étiologique qui doit lui être attribué.

C'est par milliers que se comptent aujourd'hui ces sortes d'analyses, et tout bactériologue peut inopinément être appelé à en pratiquer une.

C'est en vue de le diriger, de lui éviter les tâtonnements et de lui permettre de se rendre assez facilement compte des difficultés qu'il rencontrera, chemin faisant, que j'ai écrit ce Précis qui est avant tout et surtout un livre de laboratoire.

Je me suis efforcé de le rendre aussi simple et aussi clair que possible, faisant peu de part à la théorie et laissant de côté les idées générales pour m'en tenir à la description des méthodes, des procédés et des espèces qui constituent la flore microbienne aquatique.

Les travaux récents effectués en France, en Allemagne et dans d'autres pays sur les questions si intéressantes et si pratiques de la filtration, de la vitalité des microbes dans l'eau, etc., étaient certes bien tentants et j'ai pensé, un moment, à leur consacrer un ou deux chapitres. J'ai cru qu'il était préférable de ne le point faire afin de conserver à ce manuel son caractère essentiellement technique.

L'ouvrage donc que je présente à l'appréciation bienveillante de mes confrères est une sorte d'*Agenda*

de l'analyste microbiologiste. J'y expose sans parti pris les principales méthodes d'analyse françaises et étrangères.

La science française a assez fait pour la Microbie, elle est suffisamment riche de noms qui comme ceux de Pasteur, Chauveau, Toussaint, Arloing, Duclaux, Straus, Chantemesse, Cornil, Raulin, Roux, Chamberland, Bouchard, Charrin, etc., sont attachés aux premières ou aux plus importantes découvertes de la science nouvelle pour que nous nous montrions généreux et accueillions ce que d'autres à l'étranger ont pu découvrir.

L'analyse microbiologique des eaux, qui doit beaucoup, en France, aux longues et consciencieuses études de M. Miquel, constitue dans le domaine de l'hygiène publique et privée un incontestable progrès ; elle a singulièrement éclairé certains obscurs problèmes d'épidémiologie et l'on sait quel rôle elle a joué dans la grande lutte ouverte entre les partisans de la *Grundwassertheorie* et ceux de la *Trinkwassertheorie*.

Combien de lumineuses découvertes nous promettent pour un avenir prochain les acquisitions de ces

dernières années ! On sent, on pressent ces futures révélations et on les prépare chaque jour.

L'édifice est encore bien informe et sans grand caractère ; tel quel, il mérite d'être décrit dans ses moindres détails.

Ce qui nous montre bien que depuis trois ou quatre ans déjà nous sommes arrivés à une étape où force nous est de séjourner, c'est que depuis cette époque les procédés d'analyse biologique des eaux n'ont guère été modifiés, au moins dans leurs grandes lignes. Mais, de toutes parts, on cherche sans relâche des moyens de déceler avec certitude la présence dans les eaux potables des microbes pathogènes qui sont, sans contredit, ceux qui nous intéressent le plus vivement, et j'aurai, à propos du Bacille d'Eberth surtout, à faire connaître quelques-unes de ces tentatives. Il reste cependant à faire plus qu'il n'a été fait et les chercheurs ont la carrière ouverte.

M. le professeur J. Teissier a montré l'année dernière dans son si lumineux rapport de mission, sur les causes de l'influenza en Russie, le rôle qu'avaient paru jouer les grands cours d'eau dans la dissémination de la maladie, et il a pu retrouver dans les eaux de la Moscowa un microorganisme, pathogène

pour les animaux, qui se rapproche singulièrement au double point de vue morphologique et biologique, d'un bacille qu'il a isolé cette année du sang et de l'urine des grippés. Ces recherches auxquelles nous avons collaboré, M. Pittion et moi, ne sont pas encore terminées et c'est pour cela que je n'ai pas voulu décrire, dans ce volume, le microbe que nous avons mis en évidence et cultivé.

Je les signale néanmoins comme un exemple des investigations absolument nouvelles et originales grâce auxquelles l'analyse microbiologique des eaux peut éclairer certains points obscurs de l'étiologie des maladies infectieuses ou épidémiques.

Il s'en faut que tout ait été dit à ce sujet et l'avenir nous réserve probablement d'importantes surprises.

Apprendre au débutant ce qui est, lui suggérer les idées nécessaires pour explorer les régions encore inconnues de la microbiologie dans ses rapports avec l'eau, tel a été mon but.

Je serais heureux si mon œuvre n'est pas jugée trop imparfaite et si je peux rendre quelques services à mes confrères.

En livrant à l'impression ces pages qui résument sept années de travaux bactériologiques dans les la-

boratoires de la Faculté de médecine à l'Hôtel-Dieu de Lyon, qu'il me soit permis d'adresser mes bien sincères remerciements aux maîtres qui m'ont constamment encouragé de leur affectueuse sympathie et de leurs précieux conseils.

Que MM. les professeurs Lortet, Lépine, Bondet, Gailleton, Arloing, Renaut et J. Teissier veuillent bien accepter le respectueux et reconnaissant hommage que je leur adresse en leur dédiant ce livre.

GABRIEL ROUX.

Champeix, le 1er Octobre 1891.

PRÉCIS

D'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX

— MICROBES AÉROBIES —

CHAPITRE PREMIER

BUT ET UTILITÉ DE L'ANALYSE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX

La notion des bactéries des eaux pouvant être pathogènes, substituée à celle de leur composition chimique. — Origines de l'analyse bactériologique. — École française et école allemande. — Analyse quantitative et analyse qualitative ou physiologique. — Quel est, de ces deux modes d'analyse, le plus utile ? — Microbes aérobies et anaérobies, anaérobies facultatifs.

Les recherches de MM. Chantemesse et Widal, de M. Brouardel et de ses élèves sur le bacille d'Eberth et les relations existant entre la fièvre typhoïde d'une part et l'eau potable de l'autre ont rappelé, dans notre pays, l'attention sur l'analyse microbiologique des eaux, pressentie et indiquée par Pasteur, pratiquée déjà depuis longtemps par Miquel, et ont causé la vogue de ce nouveau mode d'investigations. Lorsqu'il a été prouvé, pour une des maladies les plus fréquentes et les plus graves, que c'était l'eau qu'il fallait surtout incriminer dans son étiologie (90 fois sur 100 d'après Brouardel), et que le

principe nocif n'était pas telle ou telle substance chimique, mais bien un *infiniment petit vivant, un microbe*, tout le monde a pensé, avec assez de raison, que ce n'était plus au chimiste seul qu'il fallait, en ce qui concerne l'eau, demander la réponse à l'interrogation classique : bonne ou nuisible ?

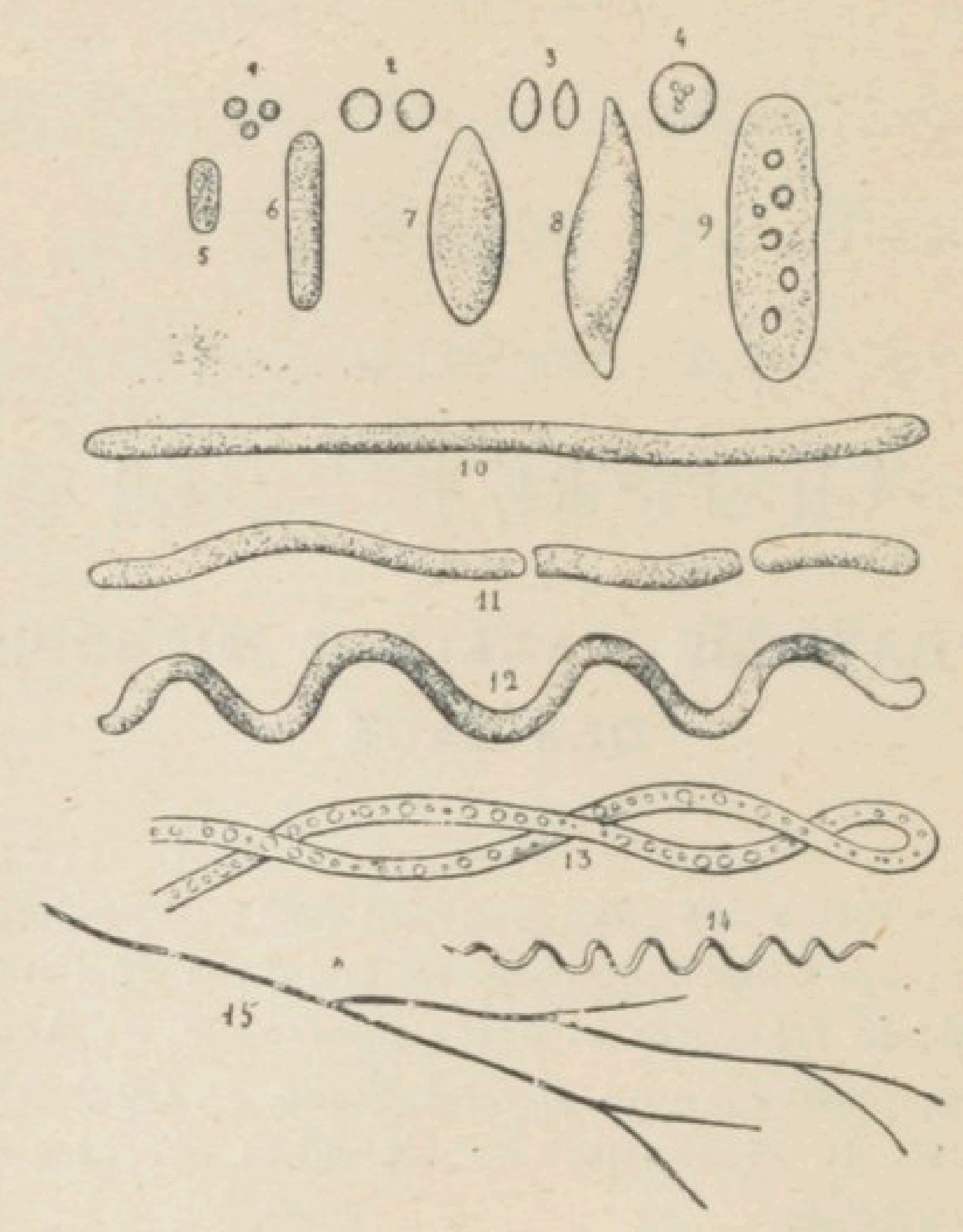


Fig. 1. — Formes des bactéries en général

1, 2, 3, 4. Coccus de différentes formes et grosseurs ; 5, court bâtonnet ; 6, long bâtonnet ; 7, 8, formes renflées ; 9, 10, filament ; 11, 12, 14, formes spiralées ; 13, forme spiruline ; 15, filament ramifié.

Puisque le corps du délit était une de ces innombrables *bactéries* (fig. 1), les unes utiles ou banales, les autres, les mêmes parfois, pathogènes, c'était le Bactériologue qui devait être consulté, et qui le fut en effet.

Et alors parmi les microbiologistes qui durent, tant la nouvelle science avait marché vite, se spécialiser dès le début, quelques-uns se consacrèrent presque exclusivement à ces sortes d'analyses pour lesquelles, en raison

de leur nouveauté, tout ou à peu près était à créer : principes, méthodes et technique.

Malgré les difficultés inhérentes à une telle entreprise les choses allèrent assez vite et les résultats furent dès le début satisfaisants, grâce aux méthodes générales inventées et préconisées en France par Pasteur, en Allemagne par Koch.

Ce dualisme de noms et de nationalités, nous allons le rencontrer constamment, chemin faisant, dans l'exposé des procédés de recherches, et c'est en combinant, somme toute, avec un sage et impartial éclectisme, les errements des deux écoles : française et allemande, que nous arriverons, sinon à la netteté et à l'absolutisme des analyses chimiques, tout au moins à une approximation suffisante pour être utile, assez sérieuse pour rester indiscutable.

Mais qu'on le sache bien, si les progrès accomplis à l'heure actuelle sont assez importants pour justifier l'apparition de ce livre, nous n'en sommes pas moins à l'aurore seulement d'une science qui va se perfectionnant chaque jour et donnera bientôt, nous en avons la conviction sincère, de magnifiques et surprenants résultats.

Je ne saurais trop le répéter, il ne faut au temps présent demander à l'*analyse microbiologique des eaux* que ce qu'elle peut donner ; ce quelque chose est à la fois beaucoup et fort peu : beaucoup si l'on considère la jeunesse de la Microbie, le peu de temps qui nous sépare du jour où pour la première fois elle a commencé à compter dans l'encyclopédie des connaissances humaines, fort peu si nous réfléchissons aux problèmes que nous voudrions lui voir résoudre et qui restent

encore insolubles. Bientôt je montrerai les lacunes, car j'estime que, dans un ouvrage loyalement écrit il faut proclamer bien haut et hardiment ce qui est acquis, ce qui est vrai, mais ne point céler non plus les défauts ni les imperfections.

Confesser notre ignorance est en ce cas, je le crois, faire œuvre, non pas seulement d'honnêteté scientifique, mais encore de progrès, puisqu'en appelant l'attention sur des *desiderata* nous pouvons avoir l'espoir de susciter des recherches qui les feront disparaître. C'est dans cet esprit que ce modeste volume a été écrit et peut-être, s'il est appelé à être utile à quelqu'un, servira-t-il autant par les *inconnues* qu'il indiquera que par les faits acquis qu'il s'efforcera d'enseigner.

Comme l'analyse chimique, l'analyse microbiologique en général est *quantitative* et *qualitative;* mais tandis qu'en Chimie la première est la plus estimée et aussi la plus utile, c'est le contraire en quelque sorte qui s'observe en Microbie.

En Chimie, au reste, la *quantitative* ne peut pas aller sans la *qualitative;* on ne peut doser des composants de corps que lorsqu'on connaît leur nature, tandis qu'il est possible de déceler celle-ci et de ne point s'inquiéter des proportions dans lesquelles chaque élément fait partie du composé ; et lorsqu'on demande à un chimiste si telle substance renferme oui ou non du plomb la réponse faite aura toujours une certaine valeur, que la quantité de plomb existant ait été oui ou non déterminée.

En tout cas, le chimiste procède toujours ainsi : il cherche si le plomb existe, d'abord : *analyse qualitative ;* il évalue ensuite, la réponse étant, je suppose,

positive, la quantité du métal : *analyse quantitative*. On procède un peu différemment en analyse microbiologique ; et pour prendre un exemple parmi les problèmes qui doivent surtout préoccuper le médecin et l'hygiéniste nous supposerons la double question suivante :

Telle eau renferme-t-elle le bacille de la fièvre typhoïde ?

Quelle est la teneur de cette même eau en bactéries quelconques (aérobies) ?

En résolvant le premier problème nous aurons bien en réalité fait une *analyse qualitative*, puisque nous aurons cherché à déterminer la qualité d'un microbe : celui qui est lié à la dothiénentérie ; mais en répondant à la seconde question posée, nous serons bien inférieurs au chimiste ; nous dirons en effet : il y a, par exemple, 1500 bactéries par centimètre cube de l'eau analysée, mais sans préciser, tout d'abord, l'espèce à laquelle appartient chacun de nos 1500 individus. Nous aurons fait une *analyse quantitative*, mais dans laquelle les éléments comptés nous sont absolument inconnus quant à leur nature et à leurs propriétés. Nous nous trouvons ici dans le cas d'un chimiste qui déclarerait que dans tel échantillon il y a cinq éléments différents, mais qui ne les nommerait pas ; et encore, lui, saurait qu'il a bien cinq corps distincts, tandis que nous, dans la supposition précédente, ne sommes pas censés savoir si nos 1500 individus appartiennent à une, dix, vingt ou cent espèces. Nous avons, que l'on me permette l'expression, compté des cailloux et non pas des roches ou des minéraux, ces derniers pris dans leur acception pétrographique.

Afin de déterminer avec exactitude à quelle espèce

connue appartient chacun des 1500 individus que notre analyse quantitative a décelés, il va falloir nous livrer à toute une série d'opérations qui seront décrites bientôt et dont l'énumération seule démontre la longueur et la complexité : formes et dimensions, mobilité, réactions colorantes, aspect des colonies sur les milieux de cultures les plus variés, action chimique de ces mêmes colonies sur certaines substances (sucre, lait, albumine, etc.,) action biologique sur les animaux, sont autant de caractères qu'il est parfois indispensable de passer en revue les uns après les autres, avant d'en arriver à se faire une opinion absolue sur l'identité de l'organisme considéré.

L'analyse microbiologique de l'eau consiste en somme dans la recherche et la mise en évidence des microorganismes auxquels on donne le nom de *Schizomycètes*, *Schizophytes*, *Bactéries*, *Microbes* (fig. 1), que cette eau renferme.

Comme l'analyse chimique, nous venons de le voir, elle peut être *quantitative* ou *qualitative*, *quantitative* lorsqu'elle a pour but de compter purement et simplement les microgermes contenus dans un volume déterminé : comme 1 centimètre cube, *qualitative* lorsqu'elle s'efforce de séparer les unes des autres les diverses espèces microbiennes et de les déterminer spécifiquement.

Cette seconde variété de l'analyse bactériologique pourrait être appelée encore *physiologique* ou *biologique* parce qu'elle doit, pour rendre tous les services que l'on attend d'elle, constater de quelle façon chacune des espèces bactériennes isolées se comporte vis-à-vis

l'organisme animal, nous instruire sur ses propriétés *pathogènes* ou seulement *saprogènes*, ou encore *zymogènes*.

On a beaucoup discuté et on discute toujours, plus encore peut-être aujourd'hui qu'à l'origine, sur l'utilité réelle, au point de vue de l'hygiène publique, de l'analyse microbiologique des eaux.

Les chimistes surtout, qui seuls étaient autrefois consultés sur la potabilité d'une eau et se trouvaient être, en cette matière, des oracles indispensables et tout puissants, ont protesté contre cette nouvelle branche de la Microbie.

Quelques-uns ont voulu lui dénier toute espèce d'importance ou bien, comme M. Denaeyer, au *Congrès international d'Hygiène de Paris en 1889*, revendiquer pour eux seuls le droit exclusif de pratiquer ces analyses biologiques en même temps que les chimiques.

D'autres cependant, plus circonspects, se contentent de considérer comme ayant peu de valeur les numérations pures et simples.

« Aussi longtemps, écrit M. Ch. Girard dans la *Revue d'Hygiène*, en 1887, que les hygiénistes compteront des bactéries sans savoir si elles sont pathogènes ou non, je considérerai leurs travaux comme une statistique intéressante peut-être, encombrante à coup sûr [1]. »

Ce dernier membre de phrase est de trop, car toutes les recherches scientifiques, quelles qu'elles soient, à condition d'être consciencieusement poursuivies, sont intéressantes et utiles, si ce n'est à bref délai, tout au

1 Ch. Girard, Réponse à un article de M. Miquel (*Revue d'hygiène*, 1887, p. 998).

moins à une échéance plus ou moins longue. Les bactériologues de profession sont, au reste, absolument d'accord avec les chimistes sur l'intérêt prédominant de l'analyse *qualitative*, et notamment sur celui de la recherche des microbes pathogènes ; pas un seul parmi eux ne soutiendra aujourd'hui le contraire.

Mais est-ce à dire que l'autre, la *quantitative*, soit absolument inutile et doive être considérée comme une collection de faits sans valeur et encombrants ? Je ne le crois pas.

Indépendamment de l'intérêt d'ordre purement scientifique, qui n'est pas tant à dédaigner que cela, ces sortes d'analyses nous apportent souvent des éclaircissements précieux et inattendus, qu'elles seules peuvent fournir, sur des causes de pollution entre tel point et tel autre dans le parcours d'une canalisation, ou nous mettent sur la voie d'une source d'infection qu'il était impossible sans elles de soupçonner ; elles nous renseignent encore sur les qualités ou les défectuosités d'une masse filtrante naturelle ou artificielle et présentent ainsi un intérêt de premier ordre.

Je connais, pour ma part, bien des exemples (il serait trop long de les rapporter ici) de semblables services rendus par l'analyse quantitative, exemples que j'ai signalés ailleurs [1] ; et il est peut-être sage, pour ne rien préjuger de ce que les découvertes futures pourront nous apporter, de dire tout simplement, avec Meade-Bolton [2] : « La détermination exacte de la *qualité* des espèces de bactéries trouvées dans une eau offre *peut-*

[1] Voy. *Rapport au maire de Lyon sur l'analyse microbiologique des eaux de la ville*, par G. Roux.

[2] *Zeitschr. für Hygiene*, I, p. 76.

être des résultats hygiéniques plus utilisables que la détermination du *nombre* total des bactéries. »

A. Lustig, qui, tout récemment, a publié un petit traité du *diagnostic des bactéries des eaux*, écrit, avec raison, en tête de sa préface, ces lignes que je reproduis textuellement parce qu'elles expriment de façon complète l'opinion de tous les bactériologues : « L'examen bactériologique de l'eau qui consiste uniquement à déterminer le nombre des germes vivants contenus dans un centimètre cube de liquide ne correspond pas *entièrement* aux exigences de la science moderne. On exige davantage ; il est nécessaire d'obtenir, isolées en cultures pures, les diverses espèces de bactéries et d'indiquer leurs propriétés biologiques ainsi que toutes celles qui contribuent à la connaissance de l'action qu'exerce chaque forme déterminée sur les différentes substances nutritives[1]..... »

Ajoutons à la phrase précédente : « et sur les différents animaux soumis à leur action », et nous aurons ainsi la formule générale des services que l'on doit demander à l'analyse bactériologique des eaux.

Pasteur[2], on le sait, a depuis longtemps divisé, au point de vue de leur biologie générale, les microorganismes en deux grandes catégories : les *Aérobies* et les *Anaérobies*, les premiers ayant besoin, pour vivre et se développer, d'oxygène libre, les autres redoutant, au contraire, l'action de ce gaz ; les recherches modernes ont fait découvrir des êtres intermédiaires entre

[1] A. Lustig, *Diagnostica dei Batteri delle acque*, etc., Torino, Rosenberg et Sellier, 1890, p. 3.

[2] Pasteur, Infusoires vivant sans gaz oxygène libre *(Comptes rendus acad. des sciences*, LII, 1861), et *Études sur la bière*, 1876, p. 282.

les deux groupes précédents et qui peuvent vivre tour à tour avec ou sans oxygène : ce sont les *Anaérobies facultatifs*.

Jusqu'à présent, en raison des difficultés de technique qui arrêtent ceux qui veulent s'occuper de la culture systématique des Anaérobies, l'analyse bactériologique des eaux a porté surtout sur les Aérobies, et les divers procédés que j'aurai à décrire s'appliquent exclusivement à ces derniers. Il y a là une regrettable lacune qui ne tardera pas, je l'espère, à être comblée, mais que j'ai cru devoir, devant l'imperfection des moyens proposés, laisser telle qu'elle.

Ce manuel aura donc pour objet la recherche quantitative ou qualitative des *Bactéries aérobies* des eaux. (J'y ajouterai cependant quelques indications sommaires sur la façon dont on peut cultiver et isoler les Anaérobies.)

J'étudierai successivement : la provenance de ces bactéries, les différents procédés d'analyse quantitative, les méthodes suivies pour isoler les unes des autres les espèces rencontrées, faire leur diagnose et savoir surtout reconnaître certaines d'entre elles éminemment intéressantes pour l'hygiéniste et le médecin, comme l'est, par exemple, le bacille de la fièvre typhoïde ; l'ouvrage enfin se terminera par une nomenclature des différentes espèces microbiennes qui ont, à l'heure actuelle, été rencontrées dans l'eau, nomenclature qu'accompagnera, pour chaque espèce, la description morphologique des cultures, sur plaques et dans le bouillon, empruntée aux auteurs qui, comme Eisenberg, Lustig, Weichselbaum, R. Mori, Adametz, Tils, etc , se sont plus particulièrement occupés de ces questions de diagnose.

CHAPITRE II

ORIGINE DES MICROBES DES EAUX

Aseptieité théorique des eaux de source. — Origine des eaux atmosphériques et des eaux telluriques. — Circulation atmosphérique. — Circulation terrestre, superficielle et profonde. — Nappe souterraine. — Pureté microbique des atmosphères marines et de montagne. — Comment la pluie se charge de germes. — Pollution du sol superficiel. — Épuration par filtration. — Pureté ordinaire de la nappe souterraine. — Eaux de surface, leur richesse microbienne.

Il est certes bien difficile de se figurer un milieu cosmique absolument dépourvu de microorganismes, puisque ces derniers sont connus même à l'état fossile[1], dans les houilles ou certaines roches des âges paléozoïques. Cependant l'idéal d'asepticité parfaite existe, et précisément dans l'eau.

Pasteur et Joubert[2] ont démontré depuis longtemps déjà que les eaux de certaines sources étaient pures au sens microbique du mot, que, puisées convenablement, elles ne renfermaient aucun germe vivant et restaient indéfiniment infertiles si on les conservait à l'abri des souillures accidentelles.

[1] Béchamp, Sur les Microzymas géologiques *(Comptes rendus Acad. des sc.*, t. LXX, 1870, p. 914). — Van Tieghem, Sur le ferment butyrique *(Bacillus amylobacter)* à l'époque de la Houille *(Comptes rendus Acad. sc.*, 1879, t. LXXXIX, p. 1102).

[2] Pasteur et Joubert, *Comptes rendus de l'Acad. des sciences*, 1878.

Nous pouvons donc, dans l'étude que nous allons entreprendre de l'origine des microbes des eaux, avoir une base solide d'orientation et un point de départ qui n'a rien de conventionnel ni de théorique.

Etant donné ce fait acquis : que les eaux de la nappe souterraine, à une certaine distance de la surface du sol, sortent de ce sol dépourvues de tout germe vivant, il sera plus facile de nous rendre compte des causes essentiellement nombreuses et variées de leur pollution.

Un rapide coup d'œil sur l'origine même de nos eaux potables est nécessaire ici.

On sait qu'une circulation incessante de l'eau sous ses différentes formes existe : entre la terre d'une part et l'atmosphère de l'autre, et réciproquement, de façon à représenter un circuit fermé.

Par évaporation, laquelle est plus ou moins intense suivant les lieux, les saisons et les climats, suivant aussi l'état de la température et de la pression barométrique, l'eau, sous forme de vapeur, est constamment restituée à l'atmosphère et cela surtout dans le voisinage des grandes masses liquides telles que les océans, les mers, les lacs, etc. Cette vapeur, qui peut acquérir une tension plus ou moins forte, persiste en cet état jusqu'au moment où, rencontrant un condensateur, lequel est représenté ordinairement par une montagne d'élévation variable, elle passe à l'état de nuages (forme vésiculaire) lesquels, emportés par les vents, vont bientôt se résoudre en pluie ou en neige suivant la température. Comme la neige, sauf sur les plus hauts sommets, est toujours destinée à fondre tôt ou tard et à donner de l'eau liquide, c'est cette dernière que nous allons maintenant suivre à la surface ou à l'intérieur du sol.

Toute eau qui atteint la surface émergée du globe terrestre s'y divise dès l'abord en deux parts d'inégale valeur, suit deux routes différentes qui, en fin de compte, aboutissent, comme nous le verrons, dans un laps de temps plus ou moins long, à un réservoir commun : l'Océan.

De ces deux trajets terrestres l'un est superficiel, l'autre profond ; une partie de l'eau tombée ruisselle en effet à la surface suivant les pentes et tend à gagner les portions les plus déclives, le thalweg de la vallée par exemple et le ruisseau ou la rivière qui l'occupent ordinairement ; l'autre partie imbibe les couches superficielles du terrain, pénètre dans son intérieur et après un trajet qui varie d'un point à un autre, suivant la nature géologique du sol, vient se collecter enfin au-dessus d'une couche imperméable pour constituer ce que l'on nomme : la *nappe d'eau souterraine* qui peut elle-même être superficielle ou profonde. Le contenu de celle-ci revient à l'air libre, soit naturellement par l'intermédiaire des sources qui ne sont autre chose qu'un des affleurements de la nappe souterraine, soit artificiellement au moyen de puits de différents systèmes forés par l'homme ou jaillissant spontanément. Aussitôt rendue à la surface, l'eau qui avait été momentanément emprisonnée sous terre suivra le sort et partagera les vicissitudes microbiques de celle que nous avons vue ruisseler dès le début.

Les petits filets d'eau devenant des ruisseaux, puis formant des rivières qui se jetteront elles-mêmes dans les fleuves, notre eau de pluie tant superficielle que profonde reviendra enfin à son lieu d'origine : la mer,

d'où partira un nouveau cycle entièrement analogue à celui qui vient d'être décrit sommairement.

Il est aujourd'hui facile, grâce aux documents déjà nombreux que nous possédons, de suivre dans ses différentes étapes les variations de cette eau au point de vue microbiologique, et l'enquête ainsi poursuivie nous donnera de précieuses indications sur l'origine même des microbes habituels des eaux.

L'appréciation exacte du lieu et du moment où s'opère la contamination sera d'autant plus aisée qu'indépendamment de la nappe souterraine que nous avons déjà vu être dépourvue de germes vivants, à condition qu'elle soit suffisamment profonde et protégée, nous allons constater de suite qu'à l'origine même de sa circulation atmosphérique l'eau sous forme de vapeur est d'une pureté microbique presque idéale.

Nous démontrerons du reste par des expériences précises empruntées à Miquel qu'il n'en peut guère être autrement.

Laissons de côté pour le moment les eaux océaniques qui réalisent cette conception mystique d'être en même temps le commencement et la fin, le point de départ et celui d'arrivée.

Leur étude bactériologique ne nous intéresse que médiocrement.

Nous pouvons en tous cas affirmer que l'eau de mer est riche en microorganismes de toutes sortes. Or la question se pose en ces termes : les tranches superficielles des Océans qui cèdent à chaque instant à l'atmosphère des torrents de vapeur d'eau laissent-elles s'échapper en même temps les infiniment petits qu'elles tiennent en suspension ?

Pour répondre à semblable interrogation il s'agissait tout simplement de pratiquer de nombreuses analyses de l'atmosphère marine à différentes époques de l'année, au large et sur les côtes, en temps calme et au moment des grosses mers ou des tempêtes.

MM. le commandant Moreau et le docteur Miquel ont exécuté ces analyses en nombre tel et avec de si grandes garanties d'exactitude que je ne saurais mieux faire que de placer sous les yeux du lecteur quelques-uns de leurs résultats dont j'ai, pour plus de clarté, condensé les chiffres.

Du 26 novembre au 20 décembre 1884, lors de son sixième voyage de Bordeaux à la Plata à bord du paquebot des Messageries maritimes l'*Amazone*, M. le commandant Moreau[1] pratique au moyen des tubes à bourres solubles 15 analyses d'air puisé un peu partout dans le parcours, le long des côtes ou en pleine mer; il aspire ainsi 27.041 litres d'air dont il capte, recueille et fait germer tous les organismes microscopiques susceptibles de se développer dans les conditions ordinaires. Or, ces *27.041* litres d'air lui donnent *26* bactéries et 5 moisissures, et, dans 5 analyses le résultat fut négatif quant aux schizomycètes, c'est-à-dire que dans 9980 litres, près de *10 mètres cubes d'air, il ne se rencontra pas une seule bactérie ;* les moisissures furent encore plus rares puisqu'elles firent défaut dans 11 analyses.

[1] *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour l'an 1886, p. 535. — Pour tout ce qui concerne l'analyse bactériologique de l'air, consulter les différents volumes de l'Observatoire de Montsouris à partir de l'année 1880, où se trouvent très clairement exposés les travaux de MM. Miquel et Moreau. — Voir aussi : *Les Organismes vivants de l'atmosphère*, par Miquel, Paris, 1883, Gauthier-Villars, impr. libr.

Dans un septième voyage de Bordeaux à la Plata à bord du *Sénégal*, 16 nouvelles analyses des atmosphères marines furent encore effectuées par le commandant Moreau et les résultats obtenus concordent absolument avec ceux que nous venons de faire connaître.

Du 3 au 24 mars 1885, *36.196 litres* d'air furent aspirés sur les côtes du Brésil, à Rio-de-Janeiro, sur les côtes d'Afrique, aux Iles Canaries, en pleine mer et dans le golfe de Gascogne ; ils donnèrent *34 bactéries* et 5 moisissures. Trois fois le résultat fut entièrement négatif quant aux schizomycètes, soit 6865 litres qui furent trouvés microbiologiquement purs.

Les opérations bactérioscopiques doivent être singulièrement facilitées et sûres dans une semblable atmosphère !

En somme, et pour ne pas accumuler des documents qui sont semblables les uns aux autres, nous dirons que la totalité des analyses effectuées par MM. Moreau et Miquel à la date de 1886 est représentée par le nombre respectable de 112.855 litres d'air marin, soit, en chiffres ronds, environ 113 mètres cubes qui ont fourni 102 bactéries, c'est-à-dire à peu près *1* par *mètre cube*. Ces chiffres ont par eux-mêmes une trop grande éloquence pour qu'il soit nécessaire d'insister ; ils constituent la meilleure et la plus probante réponse à la question posée ci-dessus.

Il n'est pas sans intérêt cependant de savoir que la richesse bactérienne de l'atmosphère des océans varie quelque peu suivant le voisinage ou l'éloignement de la terre ferme. Ainsi dans les analyses effectuées à au moins 100 kilomètres du continent la proportion des microbes descend à 0,6 par mètre cube, elle monte au

contraire, lorsque la distance de la terre est inférieure à 100 kilomètres, à 1,8 ; enfin la proportion est un peu plus forte en pleine mer, lorsque celle-ci est grosse et houleuse (1 au lieu de 0,6), et diminue quand la mer est calme (0,3 au lieu de 0,6), d'où cette conclusion, formulée par Miquel :

En temps normal les océans ne cèdent pas à l'air les bactéries qu'ils renferment ; cependant, quand la mer est grosse et houleuse, l'air marin se charge de bactéries, mais dans une très faible proportion.

Nous avons dit plus haut qu'un semblable résultat était à prévoir, étant données certaines expériences de laboratoire faites sur ce sujet.

Ces expériences, des plus intéressantes à bien des points de vue, sont encore dues à Miquel et sont rapportées dans son livre sur les *Organismes vivants de l'atmosphère*.

Elles ont pour but de démontrer la pureté microbique de la vapeur d'eau échappée des infusions putrides par le simple phénomène de l'évaporation. Le dispositif de l'expérience peut paraître quelque peu compliqué à la lecture, il est en réalité très simple [1]. L'appareil se compose : d'une cloche tritubulée dont la base parfaitement rodée s'applique exactement sur un plateau de verre dépoli, d'un ballon suspendu au centre de la cloche, destiné à produire l'eau de condensation, et enfin d'un cristallisoir qui contiendra les liquides ou les substances putréfiées. Une des tubulures latérales de la cloche est munie d'un tube de verre recourbé qui

[1] Voir pour le détail de l'appareil : *Organismes vivants de l'atmosphère*, de Miquel, p. 225 et suiv., fig. 77.

servira en même temps à renouveler l'atmosphère de l'appareil et à introduire le liquide putréfié dans le cristallisoir; la seconde tubulure latérale, située en face de la première, reçoit un tube de verre recourbé en sens inverse du précédent et un thermomètre. L'appareil ainsi constitué est mis dans une étuve; un courant d'eau froide, grâce à un dispositif très simple, parcourt incessamment le ballon dont la calotte inférieure et extérieure se recouvre rapidement de fines gouttelettes qui grossissent, puis ruissellent et viennent enfin tomber dans une capsule de platine parfaitement flambée, qu'on a eu soin de placer sur un trépied, au-dessus de l'infusion septique.

De l'eau de Seine, de l'eau d'égout, des eaux saumâtres, des solutions absolument fétides et à odeur repoussante, distillées par ce procédé de façon à obtenir 50 centimètres cubes et même 100 centimètres cubes d'eau condensée, *n'ont jamais présenté la moindre bactérie.*

Dans un cas même l'eau de condensation avait conservé une odeur des plus nauséabondes et malgré cela, ensemencée à la dose énorme de 60 centimètres cubes dans des conserves nutritives variées, elle ne donna lieu à aucun développement microbien.

D'où Miquel conclut avec raison : « Cette expérience décisive ne laisse plus le moindre doute sur l'impuissance absolue de la vapeur à soulever des infusions le microbe le plus ténu, *même quand son action est secondée par les courants d'air* déterminés par le refroidissement incessant de l'atmosphère d'une enceinte très circonscrite. »

Et ce fait de l'asepticité de la vapeur provenant d'une

masse d'eau quelconque est vrai aussi en ce qui concerne les portions émergées ; l'eau évaporée de la surface du sol, dit encore Miquel, n'entraîne jamais de schizophytes.

De toutes ces assertions basées sur des expériences maintes fois contrôlées nous devons déduire cet axiome fondamental pour l'étude de la question qui nous préoccupe en ce moment, à savoir que, *au début de sa circulation atmosphérique, l'eau est dépourvue de tout germe microbien vivant ;* nous représenterons cet état d'asepticité par le signe conventionnel 0.

De la surface des océans nous avons vu la vapeur d'eau s'élever suivant la direction des vents régnants jusqu'au contact de sommets plus ou moins hauts, lesquels jouent le rôle de condensateurs.

Il est bien évident que, chemin faisant, cette vapeur s'enrichit de quelques germes rencontrés çà et là, puisque nous savons qu'ils deviennent moins rares dans le voisinage de la terre ferme ; cependant, étant donné, d'une part, que la condensation, c'est-à-dire la formation des nuages, s'opère sur les hauts sommets et que, d'autre part, l'atmosphère des montagnes élevées est microbiquement très pure, comme en témoignent les nombreuses analyses de M. de Freudenreich, le collaborateur alpin du docteur Miquel, l'eau, à l'état de nuages, doit être encore relativement très pauvre en microorganismes.

Les chiffres suivants donnés par M. de Freudenreich en font foi [1] :

[1] *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris*, années 1884 et 1885.

NOMBRE DE BACTÉRIES DANS 10 MÈTRES CUBES D'AIR (10.000 LITRES)

Alpes Bernoises (altitude de 2000 à 4000 mètres). . .	0
Sur le lac de Thoune (560 mètres).	8
Voisinage de l'hôtel Bellevue (560 mètres).	25
Glacier d'Aletsch (3000 mètres).	10
Col de Théodule près de Zermatt (3350 mètres). . . .	3,3

Il n'est pas nécessaire au reste de s'élever beaucoup, même au-dessus d'une ville populeuse, pour voir le nombre des bactéries décroître singulièrement ; c'est ainsi qu'en ce qui concerne Paris Miquel a trouvé : à la mairie du IVe arrondissement, 462 germes de microbes par mètre cube et 28 seulement au Panthéon, tandis qu'il y en a 5500 dans la rue de Rivoli et 760 dans le parc de Montsouris.

Les nombres précédents sont pour nous très instructifs, parce qu'ils nous indiquent que la quantité des microbes de l'atmosphère augmente au fur et à mesure que l'on se rapproche du sol, et, bien que les germes aériens soient beaucoup moins nombreux qu'on ne le croyait à une certaine époque, ils représentent cependant pour l'eau un élément d'approvisionnement qui est loin d'être négligeable.

C'est en traversant sous forme de pluie ou de neige l'air atmosphérique que notre eau va commencer à s'enrichir de particules organisées et vivantes, et pour bien faire comprendre quelle est l'importance de cette source de germes peut-être est-il nécessaire de citer ici encore quelques chiffres.

En 1889, Miquel[1] a trouvé à l'Hôtel de Ville de

[1] *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* pour 1890, p. 391 et 390.

Paris, par mètre cube d'air, une moyenne de 9780 bactéries et de 1420 moisissures ; le mois qui a fourni la plus forte proportion de schizomycètes est septembre avec 19.300 par mètre cube, celui dans lequel a été observé le minimum est février avec 3345.

A la place Saint-Gervais, la moyenne de neuf années, de 1881 à 1889, a été de 4520 par mètre cube.

A Lyon, dans une cour de l'Hôtel-Dieu où l'air est relativement stagnant, le docteur Rossi, au cours de recherches entreprises sous ma direction, dans le laboratoire de M. le professeur Bondet, pour sa thèse inaugurale[1], a constaté 1084 bactéries et 833 moisissures par mètre cube, et cela au mois d'octobre, alors que la température très basse était à peine de 5° C.

Au parc de Montsouris enfin, pendant sept ans, de 1881 à 1887, la moyenne des microbes récoltés par mètre cube d'air a été de 390 seulement.

Plus on s'éloigne des grands centres d'agglomération et plus l'air devient microbiquement pur, sans toutefois atteindre l'asepticité presque absolue des hauts sommets ou des atmosphères maritimes.

Cette courte digression, quelque peu étrangère à notre sujet, avait pour but de nous montrer d'où doivent provenir les nombreux germes que nous allons maintenant rencontrer dans l'eau de pluie et même dans la neige; nous réservons pour le moment l'origine de ceux qui ont été rencontrés dans la grêle.

C'est à partir de 1879 que Miquel a commencé à s'occuper de l'analyse systématique des eaux météoriques,

1 Rossi, *Sur quelques numérations des Bactéries de l'air dans les hôpitaux de Lyon*, thèse inaug., Lyon, 1890.

et depuis 1880 le volume annuel de l'Observatoire de Montsouris nous apporte de précieux renseignements sur cette branche de la Microbie analytique. Dès la première année il put déduire de ses expériences multipliées une série de conclusions intéressantes, parmi lesquelles je citerai plus particulièrement celles-ci :

L'eau de pluie renferme à volume égal un nombre d'espèces moindre que les eaux qui circulent à la surface du sol; en toutes saisons la pluie, la grêle, la neige sont chargées d'organismes microscopiques, la neige toutefois est moins riche que les pluies d'été.

En tout cas, les eaux de pluie ont une richesse en microorganismes assez notable pour qu'il en soit tenu, dès à présent, grand compte dans l'étude des différents processus de pollution des liquides de boisson.

Au parc de Montsouris, des analyses pratiquées pendant trois années, de 1883 à 1886, on a pu déduire une moyenne de 4346 bactéries et de 4000 mucédinées par litre d'eau de pluie ; or, la hauteur annuelle de pluie, à Montsouris, étant d'environ 60 centimètres, il y a donc, chaque année, *déposés sur le sol, par mètre carré* de surface, *4.500.000* germes, et ce chiffre est bien certainement inférieur à la réalité !

Les pluies les plus chargées en microorganismes sont celles des mois les plus chauds de l'année ou encore les premières averses des orages et celles qui succèdent à une suite de jours secs, mais il est inexact de dire que la pluie recueillie à la fin d'une journée pluvieuse est plus pauvre en germes que celle prise au commencement ou au milieu. Enfin, la richesse microbienne de ces eaux météoriques varie essentiellement avec les localités, même voisines ; ainsi, à la caserne Lobau, les eaux

de pluie sont plus chargées en germes que celles de Montsouris, mais il est juste de dire que l'air lui-même est, à ce point de vue, bien différent dans ces deux stations.

Voilà donc l'eau ayant terminé son trajet aérien et qui, partie avec 0 *bactérie* arrive à la surface du sol avec plus de 4.000 *microbes* par litre ; son impureté est donc déjà bien manifeste, et en admettant même, ce qui n'est pas, que le *substratum* qui va recevoir ce liquide pollué soit, lui, parfaitement aseptique, il n'est pas difficile de comprendre comment le degré de pollution va aller en s'accentuant de plus en plus.

Deux conditions, essentiellement favorables à la végétation et à la pullulation des schizophytes, sont, en effet, réalisées dès que l'eau touche terre : un état de repos relatif[1] et l'apport, en quantités notables, de matériaux nutritifs,

D'après Léone, il est vrai (*Recherches sur les microorganismes de l'eau potable*, etc., *Rev. sanit. de Bordeaux et de la province*, octobre 1886), l'agi-

[1] Les opinions au sujet de l'influence sur la pullulation des microbes de l'état de mouvement ou de repos du *substratum nutritif* sont très discordantes. Horvath, en imprimant de nombreuses vibrations à des cultures faites dans le liquide artificiel de Cohn, a observé que la végétation ne tardait pas à être supprimée. Reinke remarqua dans ces mêmes conditions un simple ralentissement, tandis que Tumas, au contraire, crut s'apercevoir que la condition la plus favorable à la multiplication de ces organismes était, non l'état de repos, mais un mouvement modéré; il a même constaté que, dans certaines limites, plus la vitesse augmentait, plus la prolifération était active. Miquel qui, lui aussi, s'est occupé de la question en ce qui concerne précisément la multiplication des bactéries des eaux potables, n'a pas observé de différences sensibles. Dans un cas il a obtenu, toutes conditions de température et de milieu nutritif égales d'ailleurs, au bout de vingt-quatre

tation ne s'opposerait pas à la reproduction des microorganismes des eaux.

Il résulte, d'autre part, des quelques expériences instituées par M. V. Despeignes *(Etud. expérim. sur les microbes des eaux*, th. de Lyon, p. 22, 1891) qu'aucune différence sensible n'a pu être notée dans la pullulation des bactéries des eaux de Lyon dans les cultures au repos ou animées de mouvements rotatoires horizontaux.

Je pense néanmoins que les bactéries ont plus chance de pulluler une fois arrivées à la surface du sol que pendant le temps de chute de la pluie, fort court au reste.

Les conditions de cette pullulation sont, en ce cas, d'autant meilleures qu'il se rencontre toujours, çà et là, quelques tranches d'eau stagnante qui deviennent le centre d'une très active reproduction de la part des petites cellules qui s'y sont réfugiées.

Ces processus de biogénèse sont d'autant plus actifs que l'eau relativement pure du météore aqueux s'est chargée, chemin faisant, de principes azotés ou minéraux qui en ont fait un bouillon de culture, sinon excellent, du moins très suffisant. Nous verrons, au reste, bientôt combien, au point de vue alimentaire, sont peu exigeants les êtres infimes que nous étudions.

heures, dans l'eau de la Vanne riche au début de 28 bactéries par centimètre cube, 88,000 germes dans l'eau au repos, et 71.000 dans celle agitée de 250 secousses à la minute. Dans une seconde expérience identique à la précédente, l'eau de la Dhuis accusant originellement 65 bactéries par centimètre cube a donné au repos 31.000 microorganismes par centimètre cube, tandis qu'après agitation elle en renfermait 43.000.

De nouvelles expériences sont nécessaires pour trancher cette question controversée.

Il n'est donc pas étonnant que les 4346 germes primitifs soient bientôt représentés par des milliers et des millions d'individus issus des premiers et que l'eau puisée à la surface du sol soit déjà plus riche en microbes que celle qui provient directement de la pluie.

Mais, dans la réalité, l'eau du ciel est loin de rencontrer, lors de sa chute, un sol vierge de toute souillure. La croûte terrestre, sur une épaisseur plus ou moins considérable, très minime toutefois, mais en tout cas à sa surface même, contient des quantités énormes de germes de toutes sortes, microscopiques artisans des opérations incessantes d'analyse ou de synthèse dont la terre végétale est en même temps le laboratoire et l'objet.

Quelques chiffres vont nous donner une idée de l'importance de ce *microcosme* des couches superficielles du sol.

NOMBRE DES BACTÉRIES AÉROBIES PAR GRAMME DE TERRE

Terre (gazonnée) du parc de Montsouris (Miquel, 1879).	700.000
— irriguée à l'eau d'égout depuis dix ans — .	870.000
— identique, non irriguée — .	900.000
Jardin de l'Inst. agr. de Leipzig, sable (L. Adametz, 1886).	380.000
— — — argile — .	500 000
Colline sableuse, aride, près Turin (Maggiora, 1887). .	1,600
Champ cultivé près Turin — . .	11.000.000
Boue des rues de Turin — . .	78.000.000
Sol voisin d'un égout à Paris (Duclaux).	64.000
Sable d'alluvion et humus à Postdam (C. Fränkel, 1887).	100.000

Tous ces chiffres s'appliquent à la surface seulement ; au fur et à mesure que l'on s'enfonce dans la profondeur les microorganismes deviennent moins

abondants, non pas progressivement, mais bien, ainsi que cela résulte des remarquables recherches de C. Fränkel[1], tout d'un coup vers 1m,25 environ, de telle sorte que l'on trouve à ce niveau 100 fois moins de germes qu'à 25 centimètres au-dessus. En tout cas, toujours d'après C. Fränkel et la plupart des autres auteurs, les ensemencements avec de la terre prise à 4 et 5 mètres, même alors que cette profondeur appartient à la zone de la nappe souterraine, ne donnent plus de colonies ou n'en donnent que très exceptionnellement.

Le sol, en effet, qui dans ses couches superficielles constitue, dans la plupart des cas, un excellent milieu de culture pour les microbes aérobies perd, dans ses portions profondes, la majeure partie de ses qualités et notamment celle de pouvoir servir de milieu respiratoire. Aussi, les bactéries aérobies perdent-elles assez rapidement, à une certaine profondeur, le pouvoir de végéter et de pulluler. C. Frankel[2], étudiant plus spécialement à ce point de vue quelques bacilles pathogènes, a vu que le *Bacillus anthracis* perdait l'aptitude au développement à 3 mètres de profondeur, alors qu'à ce même niveau le *bacille du choléra asiatique* était encore capable de vivre, mais, circonstance curieuse, seulement pendant les mois d'août, septembre et octobre.

Quant aux *bacilles typhiques* placés dans les mêmes conditions, ils ne seraient réfractaires à la culture que pendant les mois d'avril à juin.

[1] C. Fränkel, Untersuchungen über das Vorkommen von Mikroorganismen, etc. *(Zeitschrift für Hygiene*, II, 3e p., 1887).

[2] C. Fränkel, *loc. cit.*

D'autre part, MM. Grancher et Deschamps[1], expérimentant sur la façon dont se comporte le *bacille typhique* dans le sol, sont arrivés aux résultats suivants : le bacille d'Eberth peut pénétrer à une distance maxima de 40 à 50 centimètres dans l'intérieur du sol et y vivre pendant un laps de temps de cinq mois et demi ; il se conserve même mieux dans la terre que dans les cultures à l'air libre.

Mais tous les expérimentateurs sont d'accord pour admettre qu'au delà d'une certaine limite, la vie cesse absolument dans les profondeurs du sol, et c'est ainsi que s'expliquerait la pureté microbiologique parfaite de la nappe souterraine et des eaux de source.

Il est vrai que de semblables assertions ne peuvent que viser les bactéries aérobies, les seules qui dans le sol aient été convenablement étudiées jusqu'à présent. Il se pourrait fort bien, ainsi que Macé[2] l'insinue, que les anaérobies existassent là où les autres font défaut, et que les véritables frontières de la région aseptique dûssent, de ce fait, être plus ou moins reculées.

Quoi qu'il en soit, ce qu'il nous importe d'enregistrer actuellement, c'est le fait de la disparition des germes aérobies dans la profondeur du sol et *la pureté ordinaire de la nappe souterraine et des eaux de source*, ce qui fait que, pour la seconde fois, nous constatons chez notre eau un état tel que sa richesse microbiologique peut être représentée par 0.

En écrivant plus haut : *pureté ordinaire*, au lieu

[1] Grancher et Deschamps, Recherches sur le bacille typhique dans le sol (*Archives de médecine expérimentale*, n° 1, 1889).

[2] Macé (de Nancy) *Traité pratique de bactériologie*, 1re édit., p. 633.

de *pureté absolue*, j'ai eu l'intention d'indiquer quelques réserves. Il peut arriver, en effet, assez exceptionnellement il est vrai, mais peut être cependant plus fréquemment qu'on ne le croit, dans certains pays de contexture géologique spéciale, que des eaux de sources bien captées et recueillies avec toutes les précautions d'usage ne se montrent pas *microbiquement* pures, tant s'en faut, et cela malgré une épaisseur considérable de terrain filtrant.

C'est ainsi que, en 1889, M. Thoinot[1] constata dans l'eau des sources qui alimentent la ville du Havre, lesquelles sont à 48 mètres en contre-bas du plateau calcaire de Gainneville à la surface duquel avaient été répandues des matières de vidanges provenant du Havre, 42.000 germes par litre dans une analyse et dans une autre 470.000; d'où cette conclusion qui, bien que s'appliquant à un cas particulier, est néanmoins susceptible d'être généralisée : que le terrain crétacé est parfois un filtre imparfait et que même une forte épaisseur de ce terrain ne saurait fournir aux nappes souterraines qu'une protection illusoire contre les microorganismes déposés à la surface du sol.

Nous voici revenus aux eaux de surface dont l'origine et aussi la composition biologique sont bien différentes, tout au moins à leur point de départ. Nous avons, d'une part, les eaux souterraines émergeant à l'air libre sous forme de sources qui, nous l'avons vu, sont, sauf quelques exceptions assez rares, absolument aseptiques au lieu de leur émergence, et, d'autre part, les eaux qui

[1] Thoinot, Note sur l'examen microbiologique d'une source de la région calcaire du Havre (*Annales de l'Institut Pasteur*, avril 1889).

dès l'instant de leur chute ont ruisselé à la surface du sol et sont restées superficielles. Ces dernières sont constamment très riches en microbes ; elles possèdent tout d'abord ceux qui préexistaient en elles à l'état de pluie ou de neige, plus les générations issues de ceux-ci dès qu'une stagnation relative a été obtenue, et enfin les espèces nouvelles déja acclimatées à la surface du sol sur lequel la pluie est venue tomber. Cette triple addition donne un total considérable et il serait fastidieux de vouloir donner des chiffres, pour l'établissement desquels peu d'analyses, du reste, ont encore été faites.

Ce qu'il nous importe davantage de connaître, c'est la composition microbique de quelques eaux courantes qui ne sont que le mélange des eaux profondes et superficielles réunies les unes aux autres, tôt ou tard, pour gagner à nouveau le grand gouffre commun.

Ici les documents ne manquent point et nous ne pouvons que choisir parmi quelques-uns des plus récents d'entre eux.

BACTÉRIES DES EAUX COURANTES ; PAR CENTIMÈTRE CUBE

Seine.	Usine	d'Ivry,	année normale,	moyenne	(Miquel).	27.340
—	—	d'Austerlitz,	—	—	—	31.060
—	—	Chaillot,	—	—	—	77.525
—	—	Saint-Denis,	—	—	—	200.000
Marne.	A Saint-Maur,		—	—	—	28.650
Canal de l'Ourcq,			—	—	—	36.190
Loire.	Près du puits d'essai de Lefort,		1889		(Miquel).	9.530
Vistule.	Rue Dobra,	Varsovie,	octobre 1889		(Bujwid).	2.160
—	—	—	octobre 1889		—	21.120
—	—	—	décemb. 1889		—	135
—	r. Czerniakowska,	—	octobre 1888		—	320
—	—	—	octobre 1889		—	14.500
—	—	—	décemb. 1889		—	75

Néva. En face la Bourse, Saint-Pétersbourg, 1887. . .	1.500
Canal de la Moïka, — 1887. . .	109.000
Sprée. Moyenne de 4 analyses, 1883 (R. Koch). . . .	102.050
Rhin. Près de Cologne (Mœrs).	20.680
Canal de Marseille à Lonchamps, 1890 (Rietsch) de 20 à	15.275
Rhône. Amont de Lyon, 1886 (Chauveau, Arloing, Fcchier).	51
— — 1890 (Arloing, Morat, Raulin). . .	77
— — 1890, moyenne (Gabriel Roux).. .	75
Saône. — 1890, — — . .	586
— milieu de Lyon, 1890, — — . . .	1.594
— en aval de Lyon, pont de la Mulatière, 1890, moyenne (Gabriel Roux).	4.280

Les écarts sont, on le voit, fort considérables ici. Certains bactériologues, je le sais, m'accuseront d'avoir groupé ensemble des valeurs non comparables, étant donné que les chiffres précédents sont le résultat d'analyses faites avec des procédés différents.

Je ne veux certes pas esquiver ce reproche et je discuterai bientôt en toute impartialité la question des méthodes d'analyse et des résultats obtenus. Mais pour le moment cette distinction ne me semble pas avoir grande importance, puisqu'il s'agit de démontrer simplement que les eaux courantes sont toujours plus ou moins riches en microorganismes : ce qui est fait.

Il me faudrait peut-être maintenant faire pour les eaux dormantes, lacs, étangs, et pour les puits, ce que je viens de tenter pour les eaux courantes, mais ceci nous entraînerait par trop en dehors du cadre qui m'est tracé et je me contenterai de dire que, comme pour les rivières, le nombre de bactéries est ici infiniment variable et soumis à des oscillations dont les causes très multiples commencent à être connues. Ainsi d'après Bujwid les puits de Varsovie renferment de 80 à 50.000 bactéries par centimètre cube.

Je voulais dans ce chapitre faire connaître quelle était l'origine réelle des microbes des eaux; je pense y être parvenu.

L'air, le sol sont les deux grands facteurs de la contamination, auxquels viennent s'ajouter dans les contrées peuplées les déjections de l'homme et des animaux, les détritus de toutes sortes résultant de l'alimentation et de l'industrie, et jusqu'aux débris d'origine végétale qui, le long des cours d'eau surtout, viennent à chaque instant apporter non seulement de nouveaux germes vivants, mais encore les éléments de la nutrition de ces infiniment petits.

CHAPITRE III

LE LABORATOIRE D'ANALYSES MICROBIOLOGIQUES DES EAUX

Matériel indispensable. — Four Pasteur. — Autoclave de Chamberland. Entonnoir à filtrations chaudes. — Étuves à incubation — Régulateurs. — Appareils de verrerie. — Instruments divers. — Réactifs et matières colorantes. — Stérilisation de l'eau.

Je veux, dans ce très court chapitre, établir l'inventaire du laboratoire du bactériologue qui désire pratiquer des analyses d'eau. La plupart des appareils, des instruments ou des objets de verrerie dont il aura à faire usage étant décrits avec détail dans le *Traité de bactériologie* du professeur Macé, de Nancy, comme dans les autres manuels de microbie, je serai très bref à leur sujet.

La condition essentielle qu'il s'agit de réaliser ici est l'asepticité parfaite, absolue, des récipients et des milieux de culture.

Il est aujourd'hui facile de répondre rapidement et sûrement à ce double *desideratum*.

Tous les récipients de verre : ballons, flacons, tubes à essai, pipettes, etc., seront, après avoir été munis à leur extrémité libre d'un fort tampon de ouate ordinaire, flambés au *four Pasteur* (fig. 2), dont on peut en quelques minutes élever la température à 150° et

même 200° C. Avant d'y être placés, tous les objets de verrerie doivent, au préalable, avoir été lavés avec grand soin à l'eau acidulée, puis à grande eau et égouttés.

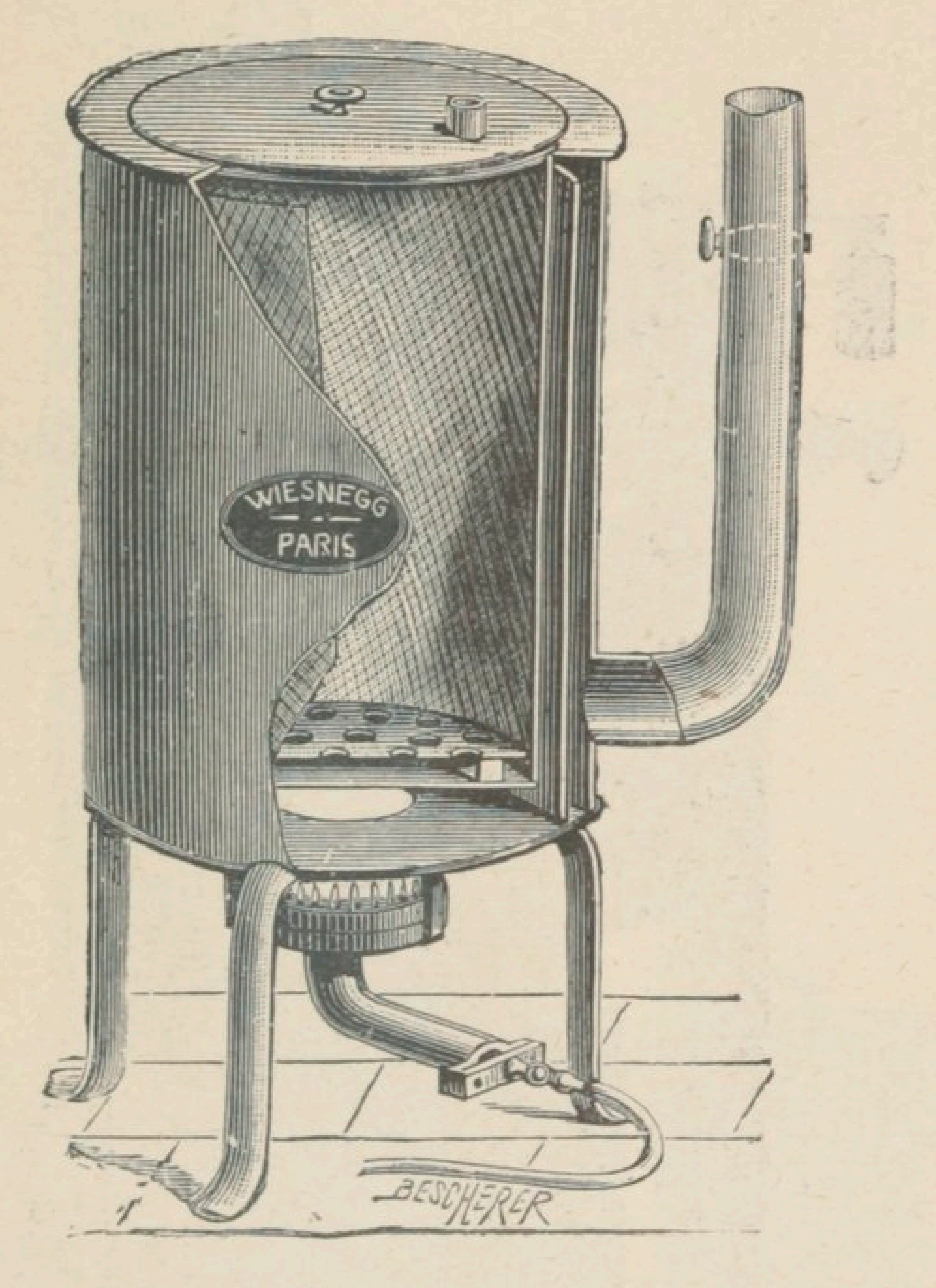


Fig. 2. — Four de Pasteur, pour flamber les ballons.

Les bouillons ou les substrata solides qui constitueront les milieux nutritifs de culture des bactéries, l'eau distillée qui servira à faire les dilutions devront toujours être placés dans des récipients *flambés*, comme il vient d'être dit, et seront stérilisés à l'*autoclave de Chamberland* (fig. 3), sorte de marmite de Papin dont l'usage est aujourd'hui généralisé dans tous les laboratoires. La température peut, dans cet appareil, être élevée sous

pression à 115°-120° C.; elle suffit, maintenue pendant quinze à vingt minutes pour détruire toutes les bactéries à la phase végétative et même à l'état de spores.

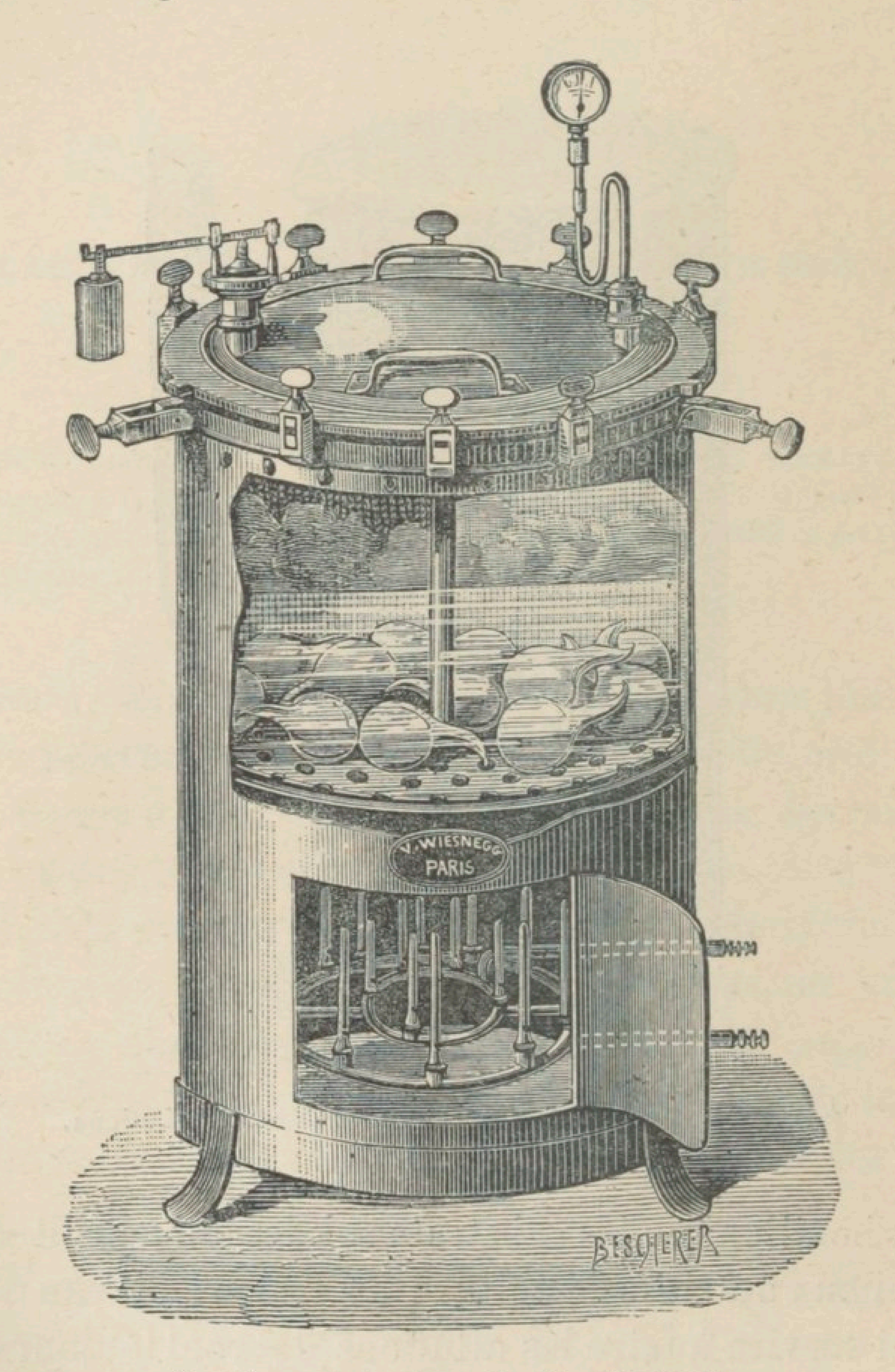


Fig. 3. — Autoclave de Chamberland.

Il est parfois nécessaire, lorsqu'il s'agit, par exemple, des milieux à la gélatine, de ne pas dépasser, dans l'opération de la stérilisation, une température de 100°

et d'éviter des pressions supérieures à la pression atmosphérique. C'est dans ce but qu'ont été inventés les

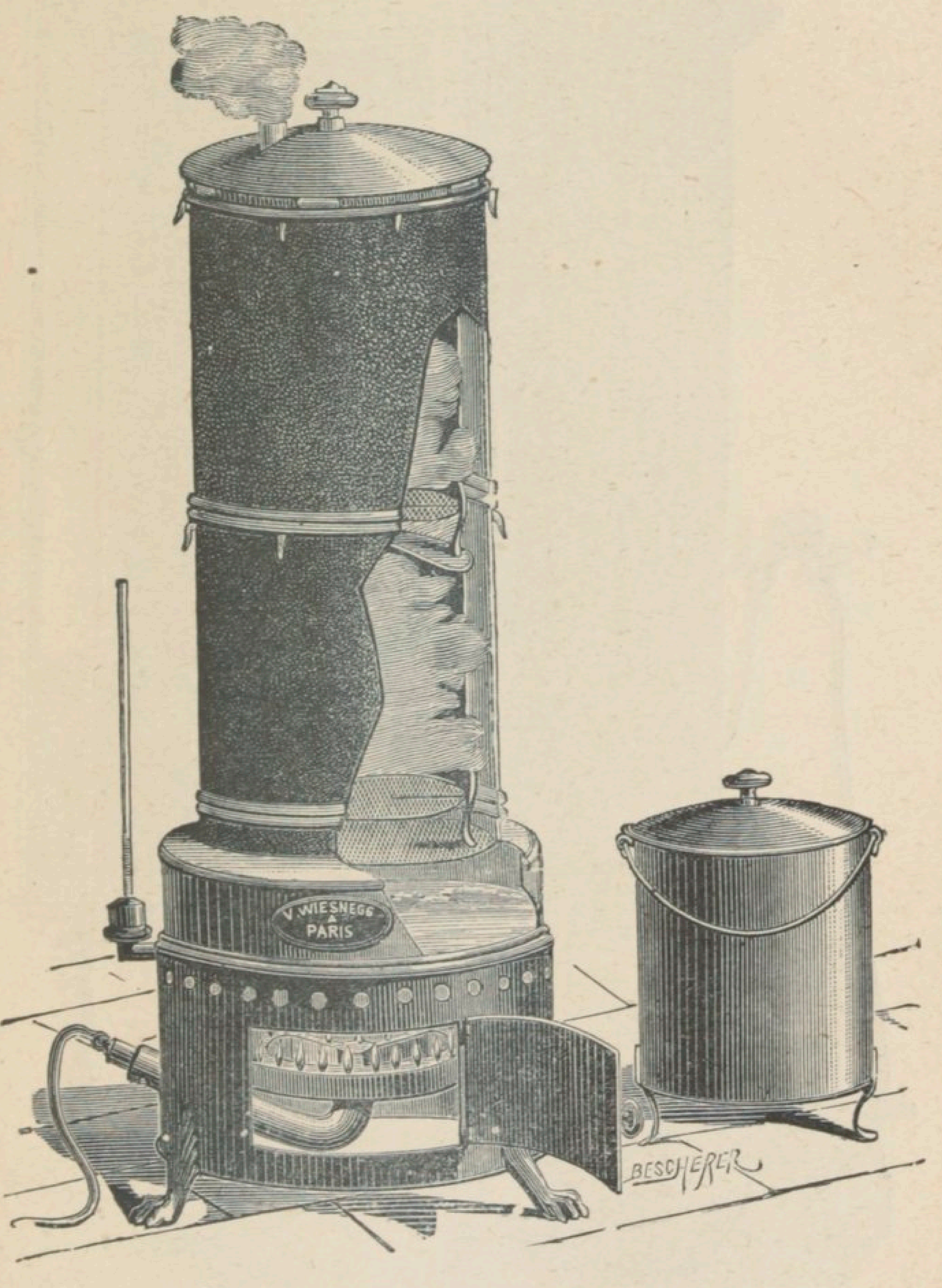


Fig. 4. — Stérilisateur à vapeur de Koch.

poêles à vapeur de Koch (fig. 4), de Chantemesse, etc. Il est possible de se passer de ces nouveaux appareils et d'utiliser, dans ces cas spéciaux, l'*autoclave*, en ayant

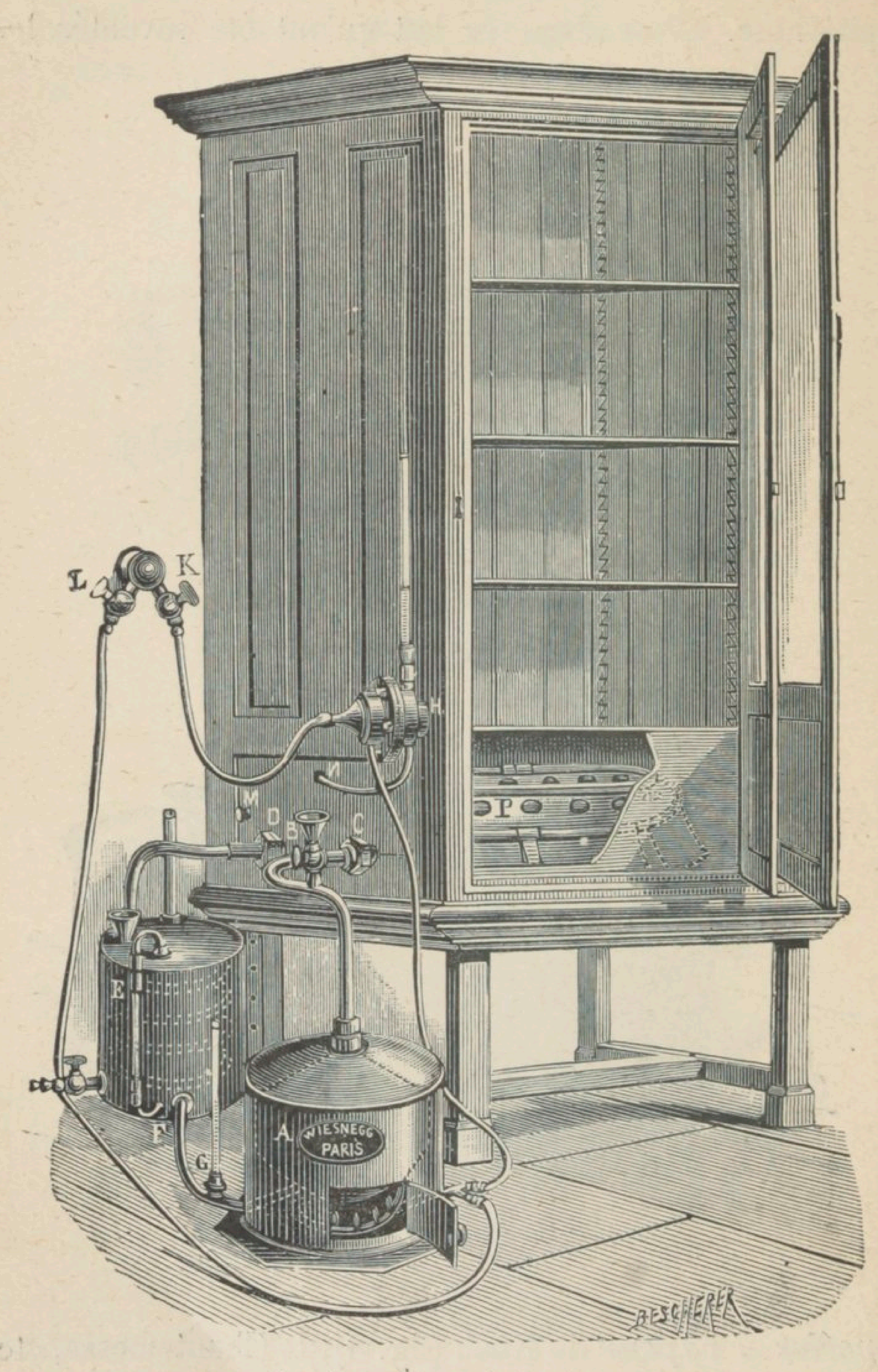


Fig. 5. — Étuve de Pasteur.

soin de maintenir ouvert le robinet qui existe sur son couvercle pour permettre à la vapeur de s'échapper au

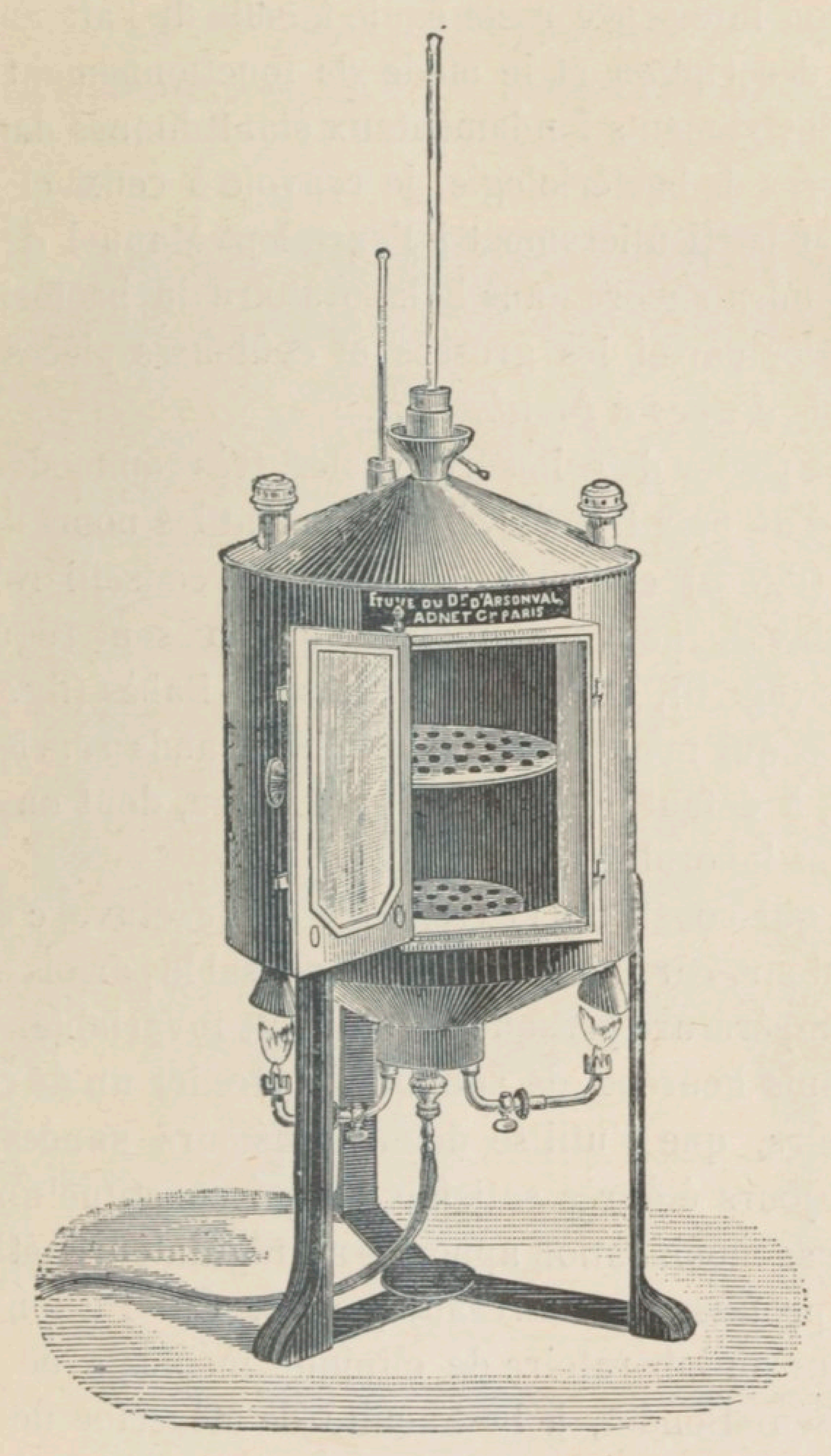


Fig. 6. — Nouvelle étuve auto-régulatrice de d'Arsonval.

fur et à mesure de sa production. L'autoclave se trouve alors transformé, à condition que l'ouverture du robi-

net soit assez large, en un véritable poêle à vapeur, où la température ne dépasse guère 100° C., tandis que la pression intérieure reste égale à celle de l'air ambiant.

La description et le mode de fonctionnement de ces deux instruments fondamentaux étant donnés dans tous les livres de bactériologie, je renvoie à ceux-ci le lecteur, et particulièrement à l'excellent Manuel de Macé.

Il faudra encore dans le laboratoire du bactériologue analyste, parmi les grosses et coûteuses pièces, deux ou trois *étuves à incubation*.

Sans parler de celles très vastes, très commodes, mais aussi d'un prix très élevé, qui portent les noms de Pasteur (fig. 5) et de A. Gautier, je conseillerai celle d'Arsonval, nouveau modèle, qui a son régulateur propre (fig. 6), et, mieux, celles de Babès (fig. 7), de Hueppe qui m'ont rendu les plus grands services, ou même, à défaut, celles de Gay-Lussac, dont on se sert dans les laboratoires de chimie.

Ce qui constitue l'excellence d'une étuve, c'est son régulateur, car il peut être indispensable parfois d'avoir une température presque absolument invariable.

Je suis heureux de pouvoir décrire ici un de ces régulateurs, que j'utilise depuis plusieurs années, dont j'ai toujours été très satisfait et qui constitue une très heureuse modification apportée au régulateur à éther de M. le professeur Chauveau, par M. Ch. Pittion, préparateur au laboratoire de clinique médicale de M. le professeur Bondet, à la Faculté de médecine de Lyon (fig. 8).

Si j'entre dans quelques détails au sujet de la construction de ce régulateur, dont la description n'a encore été donnée nulle part, bien que plusieurs labo-

ratoires lyonnais le possèdent depuis longtemps, c'est parce qu'un expérimentateur quelque peu familiarisé avec le travail du verre peut lui-même le fabriquer, dans un laboratoire muni d'une lampe d'émailleur [1].

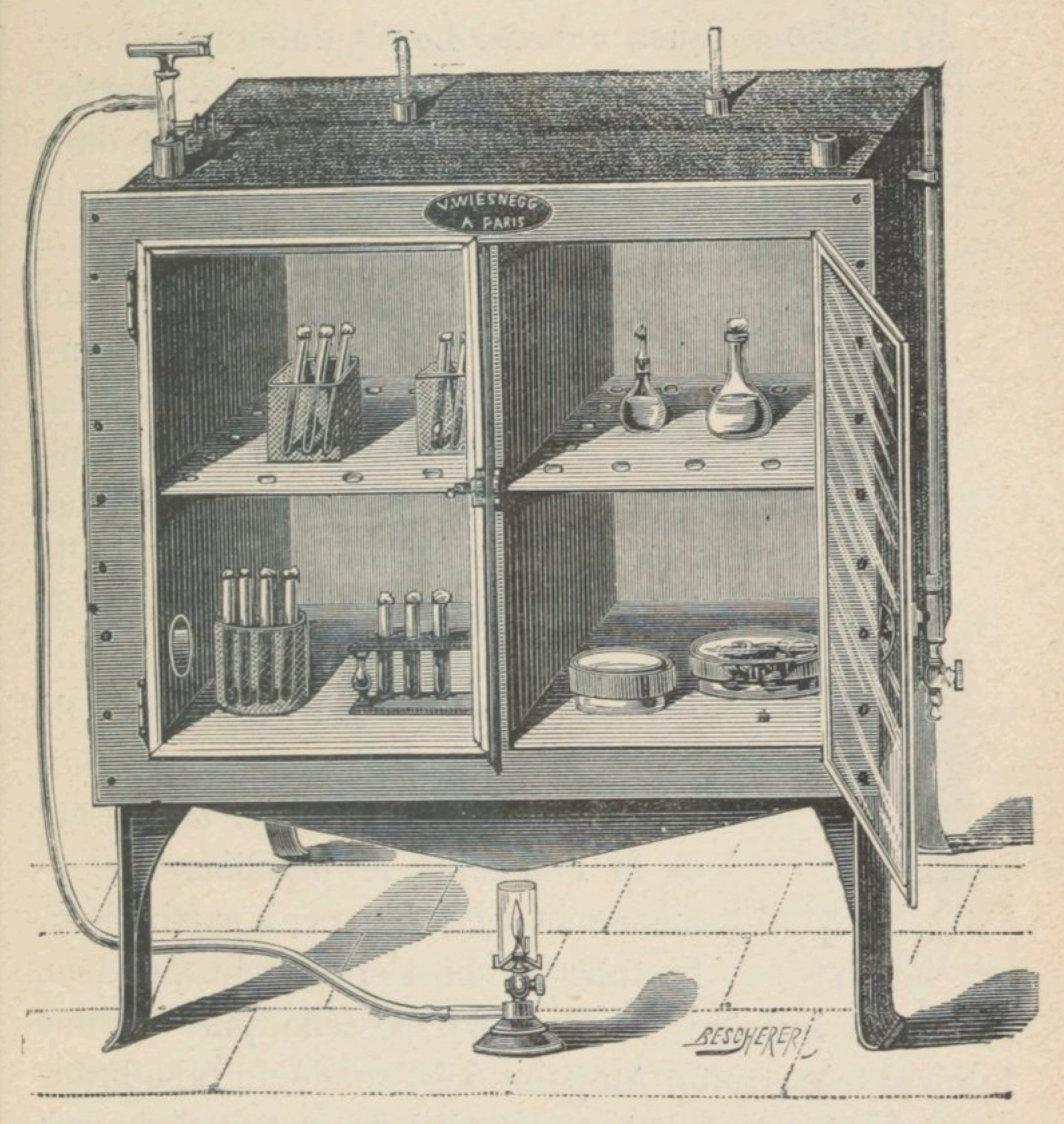


Fig. 7. — Grande étuve, modèle Babès, à deux compartiments.

Le fonctionnement du régulateur représenté par la figure ci-jointe repose sur la tension des vapeurs de

1 On peut se procurer le régulateur de M. Pittion, chez Cambrillat, souffleur de verre, rue Montesquieu, 4, à Lyon.

l'éther ; il convient donc très bien pour les températures supérieures au point d'ébullition de ce liquide (34°,5). Cet instrument n'est qu'une modification de celui que Chauveau a inventé et dont il a doté son laboratoire, il y a quelques années. Le régulateur de Chauveau était composé de deux parties distinctes, l'une fixe et plongeant dans l'eau de l'étuve, c'était un réservoir barométrique à mercure; l'autre, mobile dans le sens vertical, exigeait l'emploi d'un support spécial ; on réunissait les deux pièces par un tube en caoutchouc rempli de mercure. L'ensemble constituait un appareil quelque peu encombrant et fragile. Celui de M. Pittion est d'une seule pièce et de construction facile.

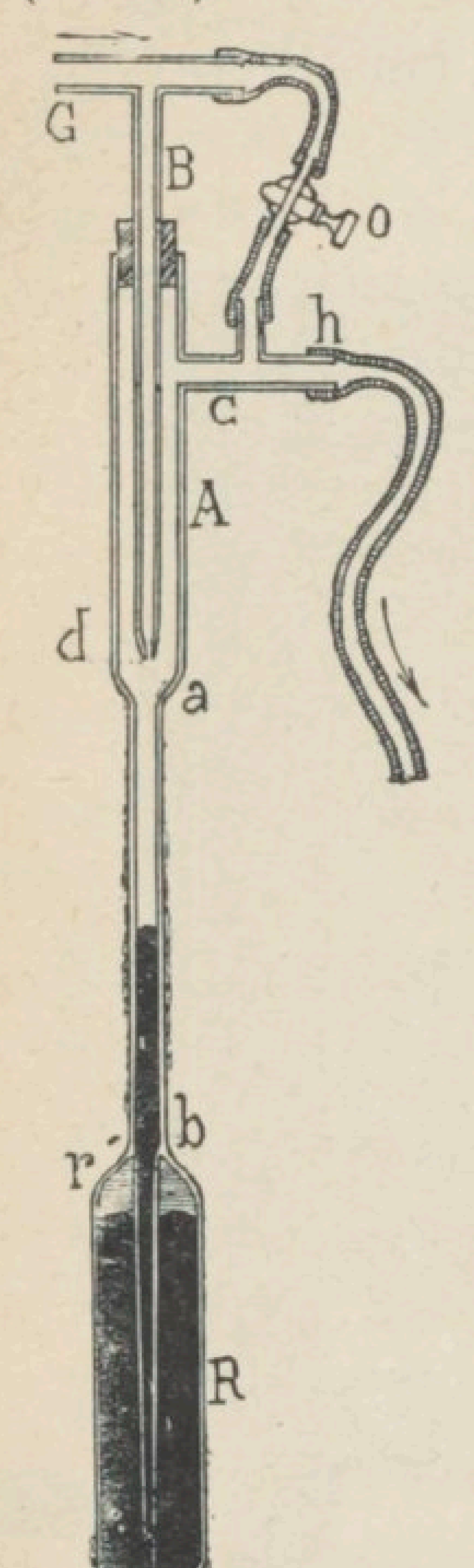


Fig. 8. — Régulateur à mercure et éther, de M. Pittion.

Il se compose (fig. 8) d'un tube de verre A dont le calibre présente deux rétrécissements, le premier *a* au tiers de la longueur, le deuxième *b* commence au second tiers ; à partir de *b*, le tube va en s'effilant jusqu'à son extrémité inférieure, où il ne possède plus qu'une lumière très étroite. Au point *b* est soudé un tube beaucoup plus large, fermé et arrondi à sa partie inférieure ; le réservoir R communique librement avec le tube A. La partie supérieure du tube A est fermée par un bouchon percé d'un trou pouvant admettre à frottement un second tube B, de petit diamètre, rétréci à celle de ses extrémités qui plonge dans la lumière du tube A,

soudé par l'autre extrémité à un tube transversal librement ouvert ; l'ensemble de cette pièce a la forme d'un T présentant trois orifices. Enfin, dans le tube A, à deux centimètres environ de l'extrémité supérieure, s'ouvre une tubulure latérale C, portant elle-même une tubulure plus petite ; cette dernière est réunie à l'une des branches supérieures du tube B par un petit tube en caoutchouc muni d'un robinet.

A l'aide d'une pipette recourbée, on a fait passer dans le réservoir R, rempli de mercure, quelques gouttes d'éther qui, en raison de leur densité, sont venues se rassembler à la partie supérieure *r*.

Le régulateur, ainsi constitué, est prêt à fonctionner. On le met en place en observant que le réservoir R soit complètement immergé dans le liquide de l'étuve. On réunit l'extrémité libre G du tube mobile au robinet du gaz, et, à l'aide d'un tube en caoutchouc, on fait communiquer l'extrémité de la tubulure latérale *h* avec le brûleur. Le fonctionnement et le réglage sont des plus simples. Le gaz arrive en G, passe librement dans le tube A, et de là arrive au brûleur par la tubulure C. L'étuve s'échauffe peu à peu. Dès que la température de 35° est atteinte, l'éther entre en ébullition ; les vapeurs formées refoulent le mercure qui, ne trouvant pas d'autre issue, s'élève dans le tube A d'une quantité d'autant plus grande que la température est plus élevée. Lorsque le thermomètre accuse la température choisie, on abaisse le tube B jusqu'à ce que l'extrémité *d* arrive au contact du mercure. Aussitôt, le passage du gaz étant obstrué, le brûleur s'éteint. Pour éviter ce phénomène, qui nécessiterait des rallumages très fréquents, on a ouvert très légèrement le robinet O ; le

gaz, ne pouvant plus passer en *d*, trouve par là une issue et peut encore arriver au brûleur, où il donne une flamme très petite et incapable à elle seule d'exercer aucune influence sur la température de l'étuve. Cette température, par suite de l'extinction partielle du brûleur, baisse au bout de peu de temps ; une partie des vapeurs d'éther formées se condense, le mercure descend et démasque l'orifice *d ;* aussitôt un nouvel afflux de gaz se produit et se manifeste par une élévation de la flamme qui sera suivie bientôt d'un nouvel abaissement.

Lorsqu'il s'agit de régler l'étuve à une température supérieure à 78°, on remplace l'éther du réservoir par de l'alcool absolu.

Ce régulateur, on le comprend aisément, ne peut fonctionner au-dessous de 35° point d'ébullition de l'éther ; aussi, pour les étuves devant être réglées à 20°, je recommande particulièrement le régulateur à mercure de Chancel (fig. 9), présenté par les Allemands dans leurs catalogues ou leurs livres sous le nom de Reichert.

Un entonnoir à filtrations chaudes (fig. 10) est indispensable pour la confection de la gélatine-peptone et des milieux à la gélose (agar-agar).

Des ballons de contenance variable, des tubes à essai de différents diamètres, des plaques de verre semblables à celles qu'a préconisées Koch, avec leur support à vis calantes, des cloches de verre, des éprouvettes graduées de différents calibres, des verres de montre et des capsules de porcelaine, quelques flacons d'Erlenmeyer, des capsules de Rietsch, dites de Pietri, des pipettes longuement effilées, complètent le matériel de verrerie le plus communément employé.

J'indiquerai encore dans cette nomenclature générale les fils de platine droits ou recourbés en crochet ou en

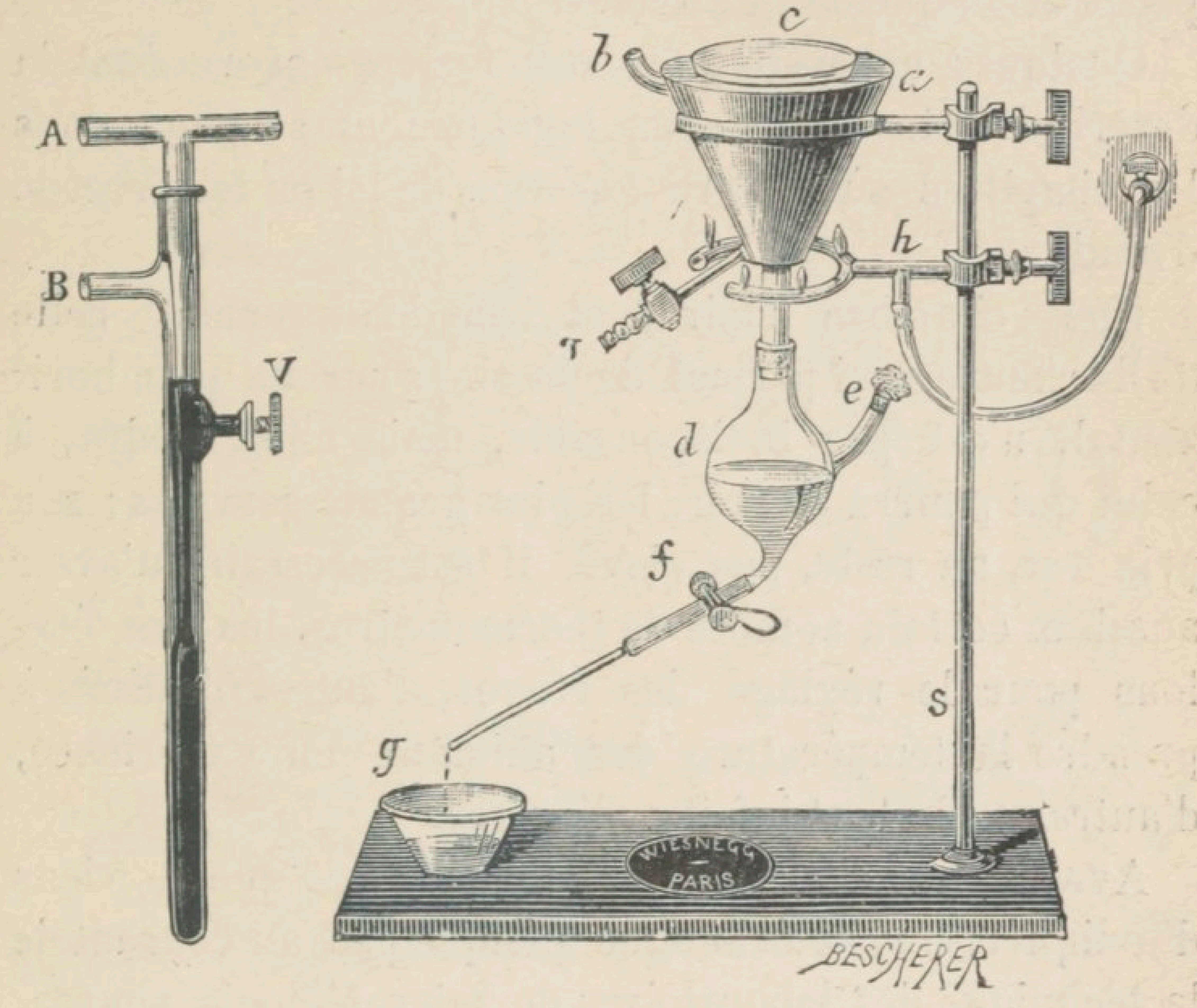


Fig. 9. — Régulateur à mercure, de Chancel.

Fig. 10. — Appareil à filtration à chaud.

anse à leur extrémité libre (fig. 11) *(öse* des Allemands), emmanchés dans une baguette de verre plein,

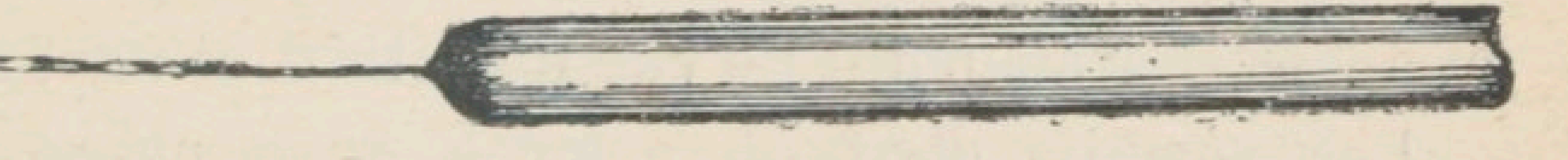


Fig. 11. — Aiguille en fil de platine.

les pinces de divers calibres, les lames (porte-objets) et lamelles (couvre-objets, *covers)* pour les examens microscopiques et enfin le microscope lui-même qui doit, par sa composition optique, donner au moins 700

diamètres et présenter la perfection la plus grande de ces sortes d'instruments, tant au point de vue de la pénétration que de la clarté.

Quelques appareils spéciaux restent encore dont la description trouvera plus logiquement sa place dans les chapitres où il sera question de tel ou tel procédé d'analyse [1].

Une chambre claire, et particulièrement celle d'Oberhauser qui permet de dessiner sur un plan horizontal, n'est pas indispensable, mais elle rendra, à celui qui pourra l'avoir, les plus grands services ; son prix est, au reste, peu élevé. Il est nécessaire d'avoir aussi un certain nombre de thermomètres, les uns étalons pour le réglage des étuves, d'autres destinés à prendre la température des animaux en expérience, d'autres enfin tout à fait ordinaires.

Avec le matériel relativement restreint que je viens d'indiquer, un bactériologue quelque peu au courant de la technique des laboratoires de microbiologie pourra, sans grande dépense, pratiquer l'analyse biologique d'une eau quelconque au point de vue quantitatif, et même, avec de très simples instruments supplémentaires, tels que seringues à injection, appareil de contention pour lapins (fig. 12), etc., et quelques animaux, la compléter au point de vue qualitatif et expérimental.

Les réactifs dont on aura à faire usage sont les mêmes que ceux employés en Microbie générale, je me

[1] Je renvoie au reste le lecteur qui voudrait avoir de plus amples renseignements sur le matériel du laboratoire aux *Manipulations de chimie*, de M. Jungfleisch, et au livre de mon ami M. Couvreur, chef des travaux de physiologie à la Faculté des sciences de Lyon : *le Microscope*, J.-B. Baillière et fils, édit.

contente d'en énumérer les principaux : Alcool, éther, eau distillée, stérilisée, acides nitrique et sulfurique, acide phénique, liquide de Gram, couleurs basiques d'aniline et plus spécialement : violet de gentiane,

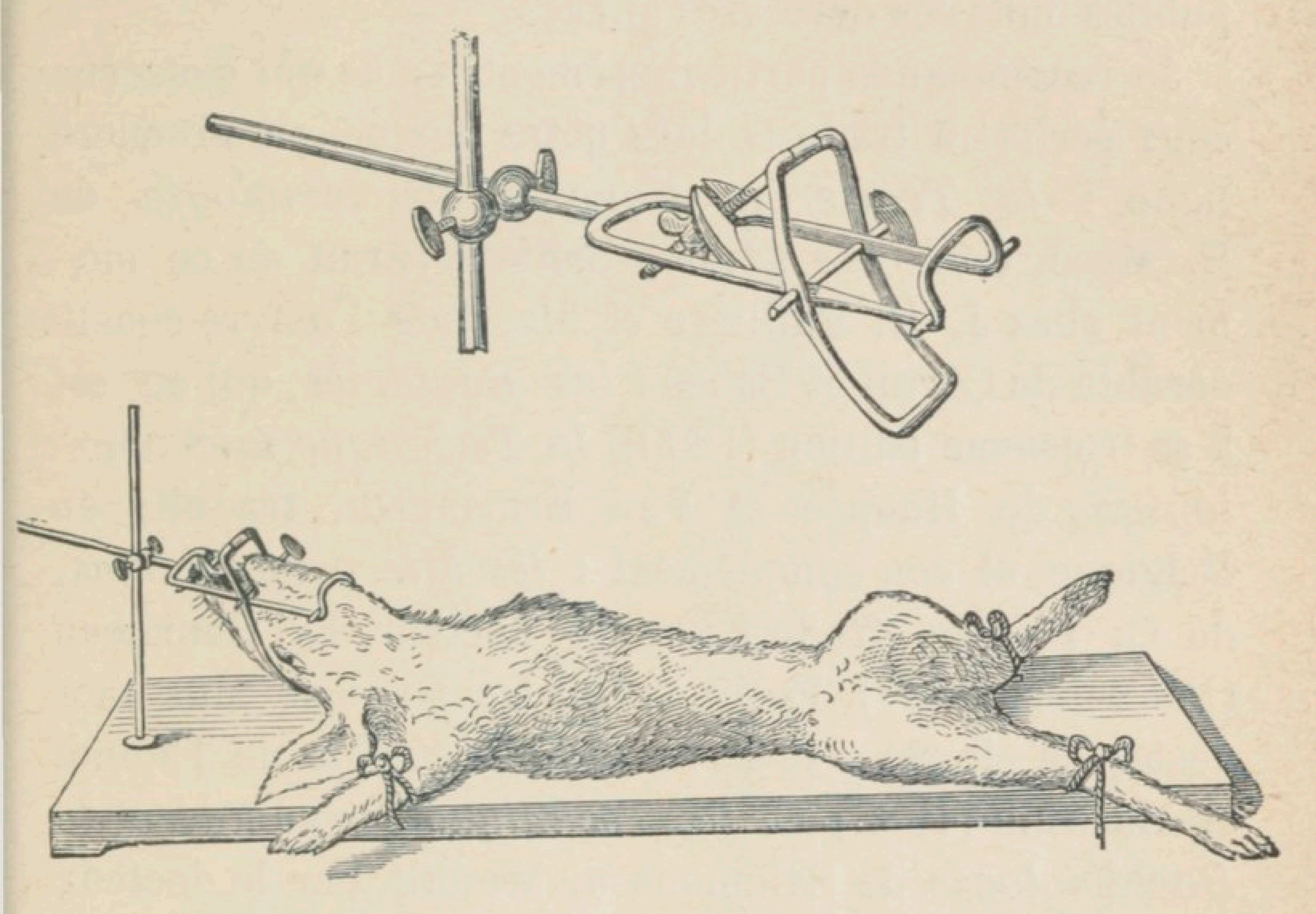


Fig. 12. — Appareil de Czermak. La figure supérieure donne les détails de l'appareil, la figure inférieure montre un lapin immobilisé (Cl. Bernard).

fuschine, bleu de méthylène, chrysoïdine, etc., quelques couleurs acides comme l'éosine, de l'essence de girofle ou de bergamote, du baume de Canada dissous dans le Xylol, Thymol, etc., papier de tournesol, ouate ordinaire, capuchons de caoutchouc, étiquettes gommées, filtres en papier, etc.

Je suppose, bien entendu, le lecteur familiarisé avec la technique bactérioscopique générale et je n'entre dans aucun détail sur la préparation des milieux de culture, leur stérilisation, la manière d'opérer les

ensemencements, de pratiquer les colorations et les examens microscopiques. Je renvoie le débutant auquel cette technique serait étrangère aux nombreux ouvrages de bactériologie français et étrangers qui ont été publiés dans ces dernières années.

Je recommande particulièrement, en ce qui concerne ceux écrits ou traduits dans notre langue, en première ligne : *le Traité pratique de bactériologie* de E. Macé, dont une seconde édition parait en ce moment chez J.-B. Baillière et fils, puis l'œuvre considérable de Cornil et Babès : *les Bactéries*, qui en est à sa troisième édition (1890), *la Technique microbiologique* de Hueppe et Van Ermengem, traduite en Belgique, et son complément : *les Microorganismes,* de C. Flügge, traduit par le docteur F. Henrijean (Bruxelles, 1887). Enfin, parmi les manuels plus modestes, je citerai : *le Précis de Microbie* de Thoinot et Masselin (1889) et *la Technique élémentaire de Bactériologie* de Salomonsen, traduit par le docteur Ray. Durand-Fardel (Paris, 1891).

Je crois devoir, à propos du matériel du laboratoire de l'analyste, donner ici quelques-uns des procédés destinés à fournir l'eau stérilisée dont on a, à chaque instant, besoin et parfois en grande quantité.

L'eau peut être rendue aseptique à froid ou à chaud.

A froid, c'est grâce surtout à la filtration à travers les bougies du système Chamberland, que l'on obtient de l'eau microbiquement pure.

La figure 13 représente une bougie Chamberland isolée renfermée dans un cylindre métallique résistant dont la partie supérieure se visse au robinet de la canalisation ; l'eau arrive dans ce cylindre purgé d'air au

préalable, passe à travers le biscuit, gagne la paroi intérieure de la bougie dans un état de pureté parfaite et peut être, pour les besoins du laboratoire, recueillie

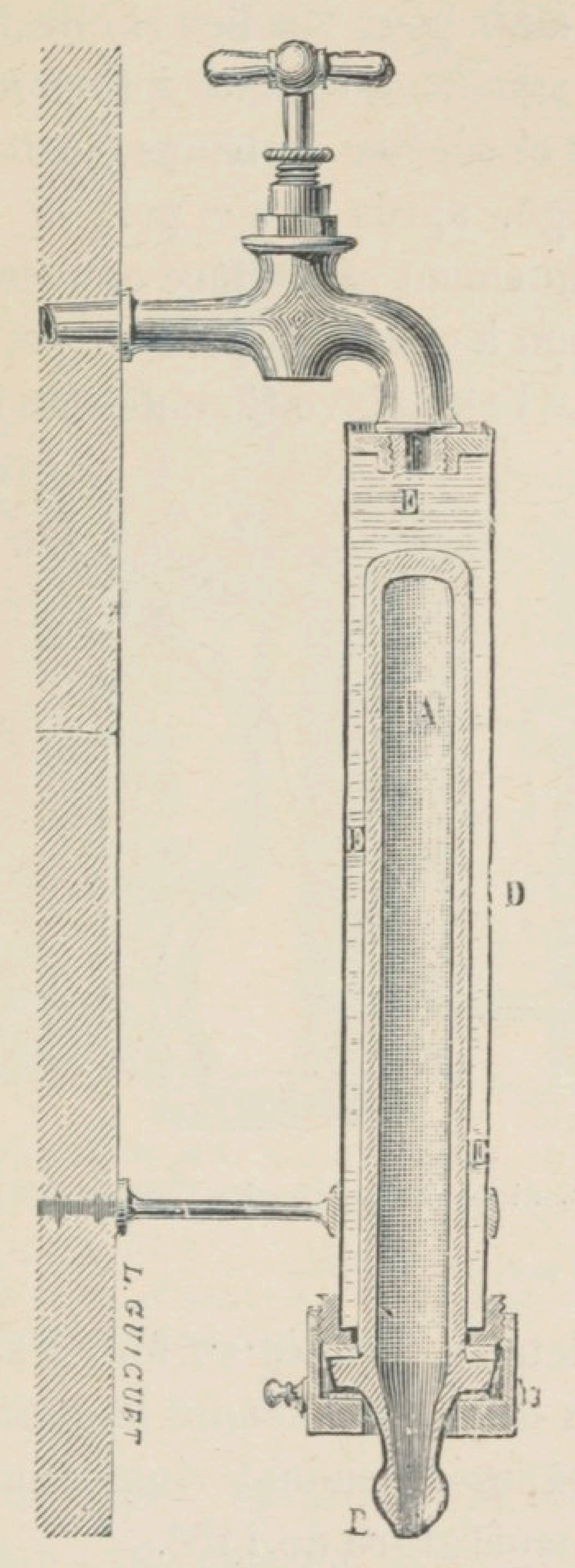


Fig. 13. — Filtre Chamberland à une bougie.

goutte à goutte, à condition que le tube d'amenée ait été préalablement stérilisé, dans un flacon flambé et bouché à la ouate.

Si l'on veut obtenir des filtres Chamberland ce qu'ils doivent donner, c'est-à-dire un liquide rigoureusement aseptique, il faut avoir soin d'essayer d'abord la bougie à la pompe à air pour vérifier si elle ne présente pas de félures, la stériliser ensuite à l'autoclave avant la mise en service et répéter de temps à autre cette opération après usage, après avoir pris la précaution de brosser énergiquement sa surface extérieure.

La stérilisation à chaud s'opère en petit, dans les laboratoires, dans l'autoclave Chamberland ou des récipients, préalablement flambés au four Pasteur, bouchés à la ouate ou au liège et contenant la quantité d'eau nécessaire, sont exposés pendant vingt minutes ou demi-heure, à une température de 115°.

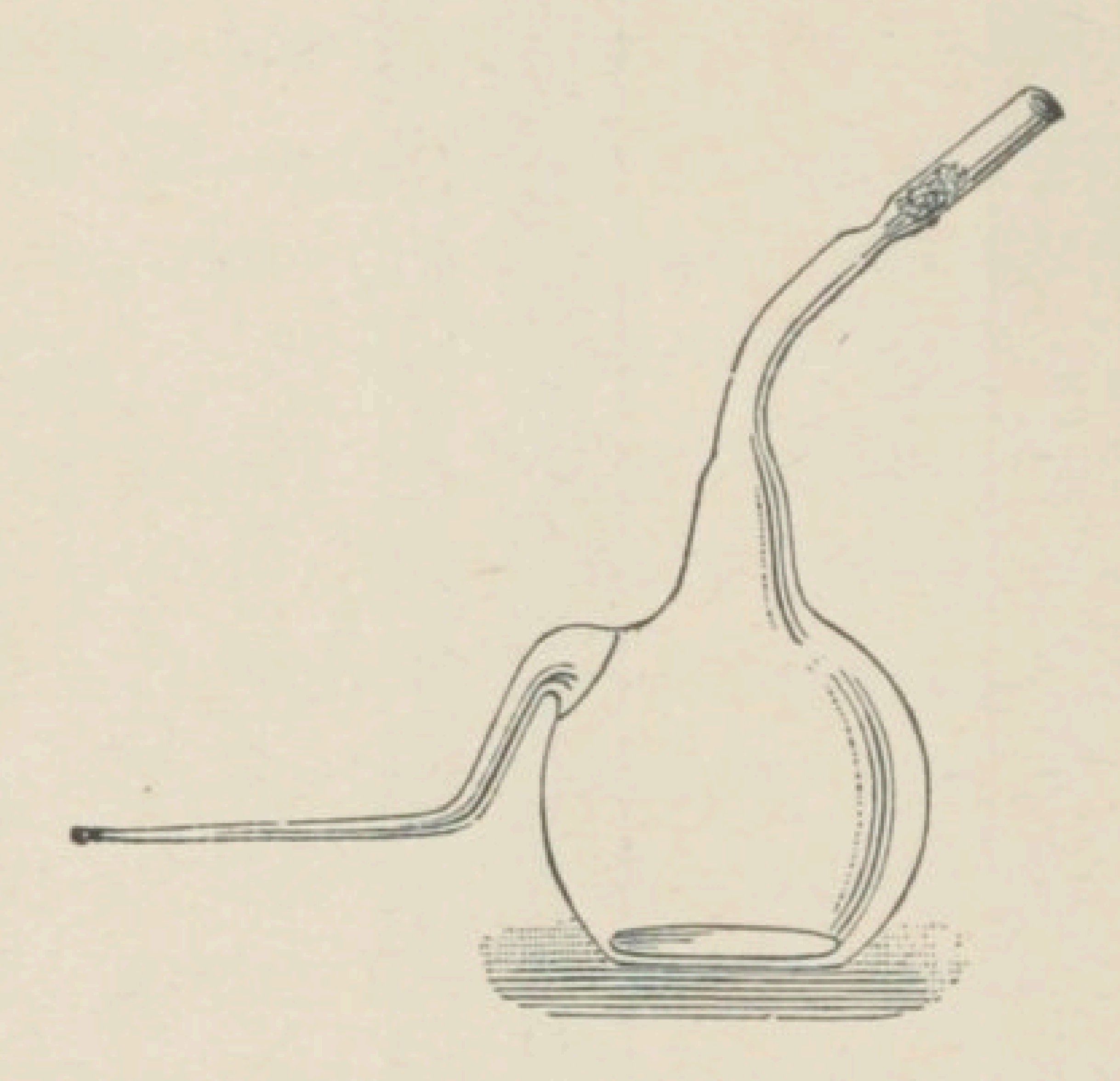


Fig. 14. — Ballon-pipette Chamberland.

On peut, afin de rendre plus commode la répartition de cette eau dans les ballons, tubes ou flacons dans lesquels se feront plus tard les dilutions, se servir du ballon-pipette Chamberland représenté par la figure 14

dans lequel le liquide pourra être plus facilement conservé à l'abri de tous germes.

MM. Rouart et Geneste-Herscher ont construit pour obtenir en grand la stérilisation des eaux suspectes un appareil assez compliqué (fig. 15) que je ne représente et décris ici que parce qu'il pourra rendre de

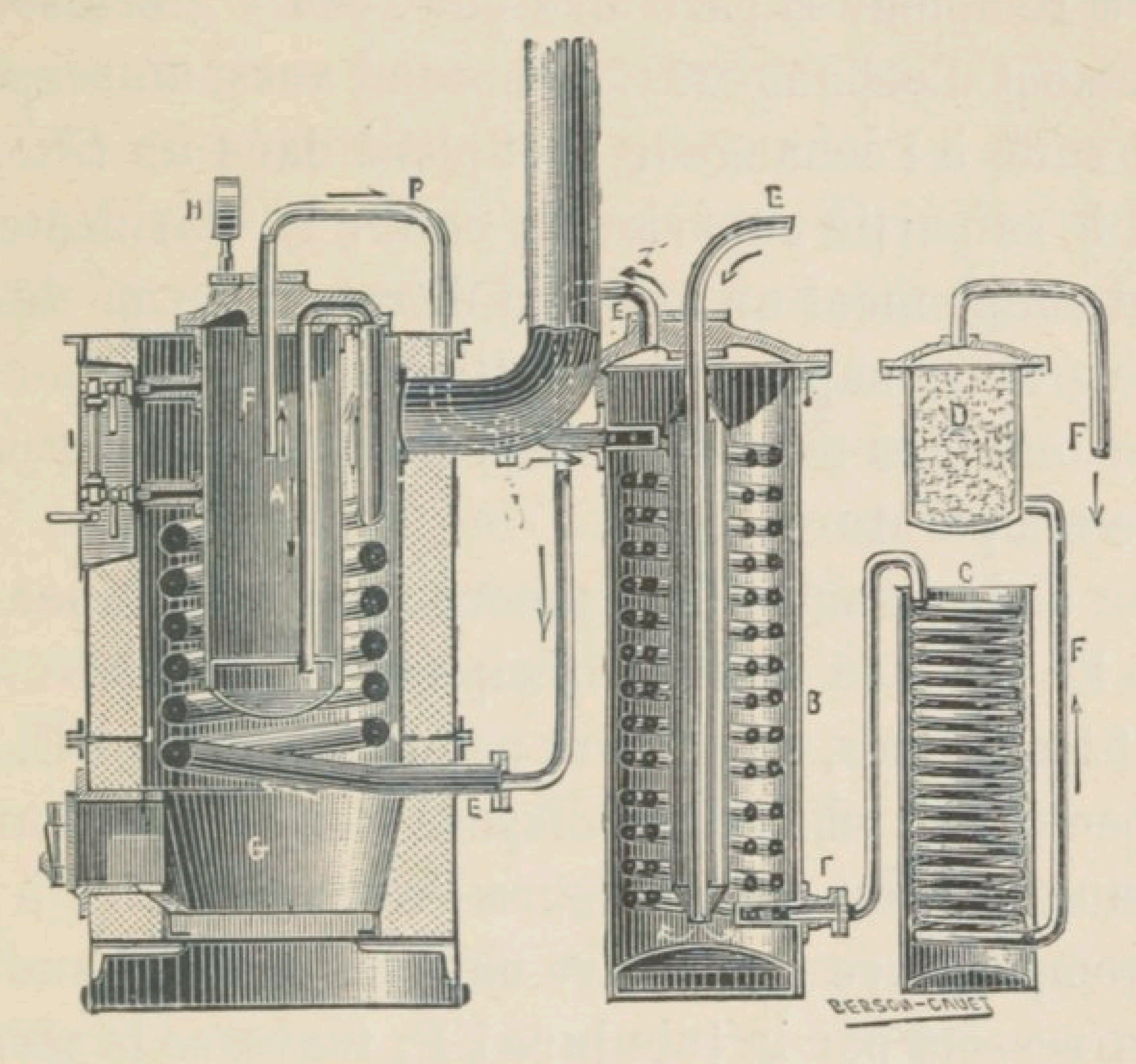


Fig. 15. — Appareil de MM. Rouart, Geneste et Herscher, pour stériliser les eaux à haute température.

A. chaudière; B. échangeur; C. complément d'échangeur; D. classificateur; E. arrivée d'eau à stériliser; F. sortie de l'eau stérilisée; G. foyer; H. manomètre; I. niveau d'eau.

signalés services dans certaines localités affligées d'épidémies dues à l'eau potable[1].

Cet appareil se compose d'une chaudière A, d'un

[1] Voy. Gab. Pouchet, *Annales d'hygiène publique et de médecine légale*, avril 1891.

échangeur B, d'un clarificateur D et, quand cela est nécessaire, d'un complément d'échangeur C. La chaudière est formée d'un serpentin E dans lequel circule l'eau à purger de germes et d'un petit réservoir A servant de régulateur. L'échangeur consiste en un serpentin F dans lequel passe l'eau stérilisée ; ce serpentin est enfermé dans un récipient B parcouru par l'eau à stériliser ; le complément d'échangeur C comprend aussi un serpentin faisant suite à l'échangeur B et placé dans un réservoir ouvert à sa partie supérieure; enfin, le clarificateur D est tout simplement un appareil filtrateur formé de couches de gravier superposées destinées à arrêter au passage les matières ténues en suspension dans l'eau portée à haute température.

L'eau de la canalisation, amenée par un robinet dans le tube E, pénètre dans le récipient B, puis se dirige, suivant les flèches, en passant par le tube en S,EE, dans le serpentin de chauffage disposé dans l'intérieur du fourneau ; durant ce parcours l'eau est portée à une haute température et pénètre dans la petite chaudière, puis en ressort par la tubulure FF, traverse le serpentin de l'échangeur, le complément d'échangeur C si cela est nécessaire et enfin se clarifie à travers le filtre de sable D.

La stérilisation est opérée à une température variant entre 115° et 130°, et il suffit de 1 kilogramme de charbon pour stériliser 100 litres d'eau. Encore une fois, je ne considère pas cet appareil comme faisant partie du laboratoire d'analyses, mais il est bon que le médecin et l'hygiéniste le connaissent, afin de pouvoir s'en servir, le cas échéant, en temps d'épidémie. C'est lui, en effet qui, d'après le docteur Gabriel Pouchet, qui a

étudié avec soin son fonctionnement[1], donne, au point de vue bactériologique surtout, les résultats les meilleurs et les plus constants ; pour obtenir, une stérilisation absolue et certaine il suffit de chauffer l'eau dans l'appareil, soit pendant quinze minutes à 120° centigrades, soit pendant dix minutes à 130°.

M. Vinay[2], dans son excellent manuel d'asepsie, a consacré quelques pages à la stérilisation de l'eau, qui joue, à l'heure actuelle, un si grand rôle en chirurgie et qui, suivant sa pureté ou son état de pollution, peut être une arme à deux tranchants et des plus dangereuses.

Il a montré, en se basant sur ses expériences et celles de M. L. Dor, qu'on ne pouvait avoir une confiance absolue dans *toutes* les bougies Chamberland, certaines parmi elles présentant de légères défectuosités de fabrication qui suffisent à rendre la filtration presque illusoire ; il en est de même de l'ébullition simple. Aussi, accorde-t-il la préférence, pour les besoins de la chirurgie, au procédé de stérilisation de l'eau, tel qu'il a été introduit dans la pratique par M. le professeur Léon Tripier[3].

On se sert d'un ballon de verre aplati à sa partie inférieure et offrant une capacité de deux litres environ. Il est muni de tubes en verre très courts, dont l'un pré-

[1] Gabriel Pouchet, Étude critique des procédés d'épuration et de stérilisation des eaux de boisson *(Annales d'hygiène publique et de médecine légale*, avril 1891).

[2] C. Vinay, *Manuel d'asepsie, Applications à la chirurgie, à l'obstétrique et à la médecine*, Paris, J.-B. Baillière et fils, 1890, p. 286 et suiv.

[3] L. Tripier, De la stérilisation de l'eau destinée au pansement des plaies *(Lyon médical*, 15 juillet 1887).

sente à son extrémité libre un renflement rempli de coton pour la filtration de l'air et dont l'autre reçoit un tube de caoutchouc sur lequel on place une pince de Mohr. On le remplit incomplètement d'eau pour que les deux tubes ne plongent pas dans le liquide. Ceci fait, on le place dans l'autoclave de Chamberland où il est soumis à une température de 120° pendant vingt à vingt-cinq minutes. Lorsqu'on veut se servir de ce ballon, il suffit de l'incliner et de régler l'écoulement de l'eau en pressant plus ou moins sur le tube de caoutchouc. Lorsqu'on veut faire cesser l'écoulement, on place la pince de Mohr et on redresse le ballon ; de cette façon, l'air extérieur ne peut entrer librement.

Ce procédé très simple et commode peut aussi être utilisé dans le laboratoire pour avoir constamment à sa disposition l'eau stérilisée dont on a, à chaque instant, besoin.

CHAPITRE IV

ANALYSE QUANTITATIVE

Trois méthodes principales : Examen microscopique direct, cultures dans les milieux liquides, cultures sur les milieux solides. — Examen microscopique direct. — Ses variétés : Examen immédiat, Examen après évaporation et coloration, Procédé de Certes. — Cultures dans les milieux liquides. — Analyses de Pasteur et Joubert. — Expériences et travaux de Miquel. — Koch et les milieux solides.

Nous avons déjà vu que l'analyse bactériologique de l'eau pouvait être *quantitative* ou *qualitative* et que cette dernière avait autrement d'importance que la première en ce qui concerne les intérêts de l'hygiène publique. Mais le plus ordinairement le bactériologue procède en même temps et par les mêmes opérations à l'une et à l'autre, il compte les individualités ou les colonies microbiennes renfermées dans un volume déterminé de liquide et il s'efforce par la même occasion de déterminer spécifiquement chacune des bactéries mises en évidence.

Comme néanmoins l'analyse quantitative précède dans la grande majorité des cas la qualitative et que l'emploi des méthodes qu'elle nécessite ne nuit en rien à la recherche ultérieure de la qualité de chaque microor-

ganisme, c'est par l'étude de ces méthodes d'analyse quantitative que je débuterai.

Elles peuvent être réparties en trois principaux groupes que nous appellerons :

1° MÉTHODES PAR L'EXAMEN MICROSCOPIQUE DIRECT ;

2° MÉTHODES PAR LES CULTURES DANS LES MILIEUX LIQUIDES ;

3° MÉTHODES PAR LES CULTURES SUR LES MILIEUX SOLIDES ;

L'ordre que je viens d'adopter est à peu près l'ordre chronologique de la découverte et de l'utilisation de ces différentes catégories de méthodes et nous fera en quelque sorte aller du simple au composé, la technique se compliquant, bien entendu, au fur et à mesure qu'elle se perfectionne.

1° MÉTHODES PAR L'EXAMEN MICROSCOPIQUE DIRECT. — Ce sont de beaucoup les plus simples et les plus anciennes et si j'ai écrit : MÉTHODES au pluriel, c'est parce qu'elles sont elles-mêmes, malgré leur extrême simplicité, subdivisées en plusieurs variétés ou procédés.

A. *L'examen immédiat* qui se pratique sans aucun artifice de préparation ou de coloration, en plaçant une goutte d'eau sur une lame de verre porte-objet préalablement flambée, et en la recouvrant d'une lamelle couvre-objet également flambée, a du exister depuis les origines même du microscope, et lorsque Leuwenhœck examinait, avec ses verres grossissants, une infusion ou une eau croupissante peuplées de ses infusoires, il employait semblable procédé. Un grossissement de 700 diamètres au moins est nécessaire ici pour que les bac-

téries soient visibles et encore celles-ci ne le deviennent-elles le plus souvent que grâce à leurs mouvements très actifs.

Ce procédé est, j'ai à peine besoin de le dire, des plus grossiers et très infidèle, et on est vraiment étonné de voir en 1886 le docteur Cahen, de Nancy, lui attribuer une telle importance que dans les conclusions de son travail[1] il dit textuellement ceci : « Le procédé de choix ou même le seul procédé pratique à employer pour exécuter l'analyse biologique des eaux est l'*examen microscopique immédiat.* »

Si ces lignes avaient été écrites dix ans auparavant, ou si M. Cahen n'avait pas connu les travaux de Pasteur, Certes, Miquel, Koch, Fol, etc., auxquels il fait allusion dans sa thèse, jaurais à la rigueur compris ses préférences, mais dans les conditions et à l'époque où elles ont été exprimées elles me causent quelque surprise.

On peut évidemment par ce procédé voir quelques-uns des microbes des eaux surtout de celles très riches en microorganismes, particulièrement les bacilles, mais la plupart des microcoques et toutes les spores passeront inaperçus, ainsi que le fait très justement remarquer M. Dubarry[2] qui a mis en usage à plusieurs reprises la méthode préconisée par M. Cahen et qui n'en a obtenu que de très médiocres résultats. Je me contente à la suite des essais que j'ai pratiqués moi-même de confirmer ces appréciations.

Le premier examen microscopique systématique de

[1] Dr L. Cahen, *Étude comparative des différents procédés d'analyse biologique des eaux potables*, thèse de Nancy, 1886, p. 60.

[2] A. Dubarry, *Contribution à l'étude de la vie des microbes pathogènes dans l'eau*, thèse de Paris, 1889, p. 6.

l'eau paraît avoir été fait par Harral sur les eaux de la Tamise et de Londres[1] en 1850 ; il laissait déposer l'eau dans un tube à expériences et examinait au microscope une goutte du dépôt.

« La chimie, dit-il dans son travail de 1851, ne peut guère être adaptée fructueusement à la recherche de la nature des matières organiques des eaux ; elle ne donne qu'une estimation assez grossière de leurs proportions et ne distingue pas les matières animales des végétales ni la matière vivante de la matière morte ; elle ne nous dit rien des familles, genres et espèces des nombreux produits vivants contenus dans les eaux impures, ni de leurs allures et de leur développement, etc. Ces recherches sont plutôt du domaine du naturaliste, du physiologiste et du micrographe, et je crois avoir le mérite d'avoir appliqué pour la première fois les ressources fournies par ces diverses sciences et d'avoir procédé d'une manière pratique et scientifique tout à la fois à l'examen des conditions actuelles de l'eau en général, et en particulier de celle de la métropole. »

L'examen microscopique direct de l'eau et de ses sédiments a été encore pratiqué avec quelque succès, semble-t-il, en 1865, par Radlkofer, de Munich, en 1852 et en 1866, lors des épidémies de choléra, par F. Cohn, de Breslau, qui publia à ce sujet un mémoire extrêmement important.

Hirt de Breslau, en 1879[2], emploie aussi la même

[1] Harral, *The Lancet*, mars 1850. — *Examen microscopique de l'eau fournie aux habitants de Londres et des districts suburbains*, brochure in-8, Londres, 1850, avec planches coloriées. — *The Lancet*, 1851, avec planches.

[2] Hirt, *Zeischr. f. Biologie*, XV, p. 91, 1879.

méthode dont il résume les procédés dans les trois recommandations suivantes :

1° Examiner successivement et immédiatement au microscope 20 à 30 gouttes de l'eau suspecte récemment puisée ;

2° Examiner aussi le sédiment déposé par l'échantillon abandonné au repos pendant 5 à 6 jours ;

3° Agir de la même façon pour la pellicule superficielle qui se forme quelquefois à la surface de l'eau au repos; et qu'il considère, malgré ses imperfections, comme la meilleure existant à cette époque (1879).

Hulwa a aussi suivi les mêmes errements pour l'étude systématique des eaux de l'Oder et de Breslau dont les résultats ont été publiés en 1885 dans un mémoire des plus intéressants [1].

Macdonald, dans la seconde édition de son *Guide pour l'examen microscopique de l'eau potable*, paru en 1883, conseille de procéder de la façon suivante : Un grand vase de verre est rempli de l'eau à examiner : puis un disque de verre ou mieux un verre de montre maintenu par une anse d'un long fil d'aluminium est descendu jusqu'au fond du vase qui est alors couvert avec soin et laissé au repos pendant vingt-quatre à quarante-huit heures. Au bout de ce temps l'eau est enlevée à l'aide d'un siphon formé par un tube de caoutchouc, de façon à ne laisser qu'une mince couche de liquide sur le disque ou dans le verre de montre. Celui-ci est alors soulevé soigneusement et posé sur plusieurs doubles de papier buvard de manière à sécher sa face inférieure et

[1] Hulwa, *Centralbl. f. Allgem. Gesundheitspflege*, Erganzungshefte, I, p. 89, Bonn, 1885.

à enlever l'excès d'eau; il est ensuite transporté sous le microscope et examiné après avoir été recouvert d'une lamelle.

C'est un procédé tout à fait analogue que préconisent au point de vue de l'examen microscopique des eaux, Tiemann et Gärtner dans leur *Précis d'analyse microscopique des eaux* (1889).

Les micrographes et les biologistes de la station expérimentale de Lawrence au Massachussett ont singulièrement perfectionné les divers procédés d'examen microscopique des eaux, procédés auxquels les noms de leurs auteurs : Parker, L. Kean, miss C.-A. Woodman, Rafter, Williston (du Connecticut), Sedgwick-Rafter, sont restés attachés, au moins en Amérique.

Comme ces différentes méthodes, plus ou moins compliquées et sûres, ont surtout pour but de déceler dans les eaux ordinaires et dans les eaux d'égout les organismes végétaux et animaux bien supérieurs aux bactéries, tels que : infusoires ciliés et flagellés, algues, diatomées, etc., je ne crois pas devoir les signaler autrement ici, et je renvoie le lecteur désireux de les connaître à la description détaillée qui en a été donnée dans le rapport du biologiste de la station de Lawrence, M. William T. Sedgwick[1].

A cette même station où dans ces dernières années on s'est occupé de l'examen chimique et biologique des eaux d'égouts l'analyse, bactériologique proprement dite

[1] Experimental investigations by the State Board of Health of Massachussetts upon the purification of sewage by filtration, etc. Part. II, of *Report on Water supply and sewerage*. Boston, Wright, and Potter Printing C°. State Printers, 18, Post-Office square, 1890, 1 vol. de 910 pages. Voir particulièrement le rapport du biologiste.

est en effet pratiquée aujourd'hui suivant la méthode de Koch dans laquelle les godets de Piétri ont été substitués aux plaques de verre.

On trouvera dans le volume que je viens de signaler quelques précieuses indications concernant la flore bactérienne spéciale des eaux d'égout, et je décris à la fin de ce « Précis » dans sa partie systématique, les espèces nouvelles qui ont été décrites par M. Edwin O. Jordan, assistant biologiste-chef de la station de Lawrence, espèces dont quelques-unes me semblent particulièrement intéressantes.

B. *Examen après évaporation et coloration.* — Ce procédé préconisé tout d'abord par Koch[1] constitue déjà sur le précédent un progrès appréciable. La goutte d'eau est évaporée au-dessus de la lampe sur une lamelle couvre-objet (cover) et le résidu qu'elle abandonne est coloré avec une solution de bleu de méthylène; on laisse sécher, on lave à l'alcool, on monte dans le baume et on examine au microscope à un grossissement d'au moins 500 diamètres. Etant donnée l'action élective bien connue du bleu de méthylène et des autres couleurs basiques d'aniline sur les bactéries celles-ci devraient être facilement constatables, si la production de cristaux ne gênait pas singulièrement l'observation. M. Cahen[2] a fait subir à ce procédé quelques légères modifications de détail.

Il opère non plus sur une seule goutte d'eau, mais bien sur 10 à 15 centimètres cubes qui sont évaporés lentement au bain-marie, dans une capsule de porcelaine

[1] Cité par Villaret, l'Hygiène à Berlin (*Revue d'hygiène*, 1883, p. 645).

[2] D[r] L. Cahen, *loc. cit.*, p. 10.

flambée, jusqu'à réduction de moitié. Il transporte alors au moyen d'une baguette de verre stérilisée par la chaleur une forte goutte de ce liquide ainsi concentré sur une lame porte-objet, moins fragile qu'un cover. La lame est placée sous une cloche de verre pendant vingt-quatre heures environ jusqu'à l'évaporation complète, puis le résidu est traité par de l'alcool concentré qu'on laisse évaporer pendant un quart d'heure, il est ensuite coloré avec du violet de gentiane, du bleu de méthylène ou mieux de la safranine et laissé en contact avec la solution colorante pendant vingt-quatre heures sous une cloche. On lave alors à l'alcool à 90°, on laisse sécher, on monte dans le baume et on examine avec un grossissement de 700 diamètres.

Le perfectionnement consiste ici surtout dans la substitution de l'évaporation lente à l'évaporation rapide au-dessus d'une flamme qui risquait de brûler et de détruire les microorganismes.

Ce procédé comme le précédent est des plus infidèles et ne peut être considéré que comme très approximatif.

C. *Examen après précipitation par l'acide osmique*. — *Procédé de M. Certes*. — M. A. Certes, qui déjà en 1880, avait, dans une note à l'Institut [1], fait connaître les avantages que l'analyse micrographique des eaux pouvait retirer de l'emploi de l'acide osmique et des autres réactifs durcissants du protoplasma, fit, le 28 août 1882, au Congrès de l'Association française pour l'avancement des sciences, tenu à La Rochelle [2],

[1] Certes, *Comptes rendus académie des sciences*, séance du 14 juin 1880.

[2] *Association pour l'avancement des sciences*, 11e session, La Rochelle, 1882, p. 777 et suiv.

une longue communication dans laquelle il préconisait à nouveau son procédé et en fixait d'une façon plus stricte le *modus operandi*. Ce procédé, essentiellement basé sur l'action fixatrice de certains produits chimiques et notamment de l'acide osmique, s'adresse non seulement aux microbes, mais encore et surtout à ces petits êtres végétaux ou animaux, infiniment supérieurs comme organisation aux bactéries, qui constituent la florule et la faunule microscopiques de la plupart des eaux. Ces infusoires, ces algues, ces microorganismes de toutes sortes sont tués, fixés instantanément dans leur forme, légèrement colorés et précipités dans le fond des récipients contenant le liquide à examiner.

Certaines précautions doivent, bien entendu, être prises, afin d'assurer la propreté absolue des flacons qui contiendront les échantillons d'eau, et pour empêcher leur contamination par des organismes ou des germes étrangers ; comme elles ne présentent rien de particulier, il n'y a pas lieu d'y insister ici.

Je préfère indiquer, de façon plus complète que cela n'est fait d'ordinaire dans les ouvrages de bactériologie, le mode d'emploi des réactifs et notamment de l'acide osmique qui, encore maintenant, peut, dans certains cas spéciaux, être utilisé et rendre quelques services.

D'après M. Certes, le réactif le meilleur est l'acide osmique; puis viennent, par ordre d'efficacité : le bichlorure de mercure, la chaleur, l'iode, le chlorure de palladium, le bichromate de potasse, les couleurs d'aniline dissoutes dans la glycérine, dans l'alcool ou dans l'eau, qui peuvent parfois être employés successivement avec avantage.

L'acide osmique doit être en solution aqueuse à

1 pour 100, conservée dans un flacon hermétiquement clos.

Quant à l'analyse proprement dite, elle s'effectue de la manière suivante :

Dans une petite éprouvette ou dans un tube long et étroit, préalablement lavés soigneusement à l'alcool, aux acides et à l'eau bouillante, on introduit dix à douze gouttes de la solution d'acide osmique (1 centimètre cube de cette solution donne, avec un compte-gouttes ordinaire, 17 à 18 gouttes). L'eau à analyser, après quelques minutes de repos, est ensuite versée lentement (à la dose de 30 à 40 centimètres cubes) par fractions et en agitant à chaque fois pour assurer le mélange. De cette façon, les organismes en suspension se trouvent successivement en contact avec une solution à 1/2, 1/4, à 1/5 pour 100, sans que cependant la proportion du réactif, qui a pu être trop forte au début pour certains organismes, devienne trop faible à la fin pour les autres. Au bout de quelques minutes, on ajoute encore de l'eau distillée pour atténuer l'action de l'acide osmique et on laisse déposer.

On décante ensuite, surtout lorsqu'il s'agit de la recherche d'organismes très ténus comme les microbes, au bout d'au moins plusieurs heures et généralement de vingt-quatre heures, de manière à ne conserver que le dépôt ou sédiment dans 1 à 3 centimètres cubes de liquide. C'est ce dépôt qui est alors examiné au microscope, tel quel ou après avoir été coloré avec une couleur basique d'aniline en solution aqueuse, additionnée de glycérine au tiers.

On peut enfin, si l'examen microscopique ne doit pas être immédiat, conserver le sédiment en le plaçant dans

de l'eau distillée phéniquée, ou dans un des liquides dont M. Certes donne les formules [1] (liquides d'Allen, de Brun, de Petit, etc.).

Les résultats obtenus avec la méthode de Certes peuvent être excellents en ce qui concerne la constatation de certaines espèces d'infusoires, d'algues ou de diatomées ; mais il nous apparaissent aujourd'hui comme bien peu importants pour l'analyse bactériologique des eaux ; ils méritent cependant d'être rapportés, parce que le procédé qui les fournit peut être considéré comme une des premières tentatives les plus sérieuses et les plus scientifiques dans la voie que nous allons parcourir.

Les méthodes basées sur l'examen microscopique des eaux, avec ou sans opération préalable, ne purent,

[1] A. Certes, *Association pour l'avancement des sciences*, La Rochelle, 1882, p. 791.

Liquide du docteur Brun :

Glycérine.	10	grammes
Glucose du commerce.	40	—
Alcool camphré.	10	—
Eau distillée.	140	—

Filtrer.

Préservatif du docteur Allen :

Acide pyroligneux..	100	parties
Acide salycilique.	1	—

1 partie de ce mélange est mise dans 40 parties d'eau distillée et 10 parties de glycérine.

Solution de M. P. Petit :

Eau camphrée..	50	grammes
Eau distillée.	50	—
Acide acétique cristallisable	0,50	centigr.
Chlorure de cuivre cristallisé.	0,20	—
Nitrate de cuivre cristallisé.	0,22	—

Faire dissoudre et filtrer.

malgré les efforts et la grande confiance de leurs auteurs, satisfaire aux exigences des véritables bactériologues qui comprenaient fort bien que des êtres d'une petitesse aussi grande que les bactéries pouvaient et devaient, le plus ordinairement, passer complètement inaperçus.

Aussi, les microbiologistes se préoccupèrent-ils de bonne heure de substituer à ces procédés grossiers et infidèles une méthode plus sûre et plus scientifique et de faire pour les microbes de l'eau ce qu'on tentait depuis quelque temps déjà pour ceux des humeurs virulentes, c'est-à-dire les cultiver dans des milieux nutritifs appropriés.

Je ne peux, dans ce manuel, faire l'historique complet des tâtonnements qui aboutirent aux découvertes modernes. Qu'il me suffise de dire que, bien qu'en 1871, Burdon Sanderson ait fait quelques expériences qui démontraient, par des cultures positives, la présence de bactéries dans les eaux de Londres, ce sont MM. Pasteur et Joubert[1] qui, en 1878, ont, les premiers, paru indiquer d'une façon formelle le procédé de culture en milieux liquides comme pouvant servir pour l'analyse microbiologique des eaux. Ils pratiquèrent eux-mêmes un grand nombre d'analyses et purent ainsi émettre un certain nombre de conclusions qui modifièrent quelque peu l'idée que l'on se faisait de la pureté de certaines eaux. Ils démontrèrent notamment

[1] Pasteur et Joubert, *Comptes rendus de l'Académie des sciences*, 1878. Pasteur et Joubert ne sont entrés dans aucun détail sur la technique employée par eux, mais il est hors de doute qu'ils se servirent de la méthode créée par Pasteur, c'est-à-dire de la culture par dilution dans les bouillons. Voyez Macé, p. 667.

que les eaux de rivière étaient très riches en germes microbiens, tandis que les eaux de source, puisées au lieu même d'émergence, n'en renferment absolument pas et que les eaux distillées des laboratoires, que l'on croyait si pures, étaient constamment contaminées, à moins qu'on eût pris soin de les recueillir dans des vases absolument privés de germes. Ces différentes constatations eurent un très grand retentissement et furent le point de départ de recherches qui, à bref délai, donnèrent, entre les mains de Miquel, des résultats tels qu'une nouvelle méthode d'analyse microbiologique des eaux était créée ayant ses règles précises, sa technique spéciale, et présentant de sérieuses garanties d'exactitude. D'autre part, les travaux de Koch[1] sur l'utilisation, en microbiologie, des milieux nutritifs solidifiables et particulièrement de la gélatine-peptone, modifièrent singulièrement la technique que l'on avait suivie jusqu'alors, et les Allemands ne manquèrent pas d'appliquer à l'analyse microbiologique des eaux les

[1] Miquel (*Annuaire de Montsouris*, 1885, p. 568) fait remarquer que c'est à tort que l'on attribue à Koch le mérite d'avoir inventé les cultures sur substratum solide. Avant lui, Klebs, de Prague, avait utilisé pour cet usage les milieux consistants; von Brefeld, en 1875, fit de semblables tentatives. M. Schænauer, le prédécesseur de Miquel à l'Observatoire de Montsouris, avait aussi semé les germes de l'air sur de la colle de pâte, des gélatines alimentaires, de l'ichthyocolle ; Miquel lui-même, puis Grawitz et Wernich utilisèrent les gelées, et lorsque Koch débuta dans ses recherches il se servit d'abord des tranches de pomme de terre bouillies, déjà mises en usage par Cohn, de Breslau, puis des gelées nutritives. Ceci est parfaitement vrai, et je ne crois pas que Koch lui-même fasse de difficultés pour le reconnaître, mais le savant de Berlin n'en a pas moins le grand mérite d'avoir su ériger en un vrai corps de doctrine technologique tous les procédés avant lui épars et disjoints.

nouveaux procédés de cultures sur milieux solides qui, quoi qu'on en ait voulu dire, ont constitué et constituent encore un immense progrès dans l'histoire de la Microbie.

CHAPITRE V

ANALYSE QUANTITATIVE

— SUITE —

Puisage et transport des eaux. — Appareils et récipients pour le puisage superficiel ou profond. — Flacons, ballons, tubes-pipettes à vide relatif, modes de stérilisation de ces récipients. — Appareil plongeur de Miquel. — Appareil modifié de G. Roux. — Udomètre de Miquel. — Expériences de Miquel et de Karlinski. — Appareils pour le transport des eaux. — Boîtes de Miquel, de Rietsch, du ministère de la guerre, de Pfühl. — Nécessaires bactériologiques de Miquel et de G. Roux.

C'est seulement avec les méthodes de culture, soit dans les liquides, soit sur les milieux solides, que l'analyse bactériologique des eaux est entrée dans sa phase vraiment scientifique ; c'est alors que l'on a pu se convaincre qu'il était absolument nécessaire, pour obtenir des résultats sérieux, de recueillir les échantillons d'eau avec certaines précautions et qu'on a du poser les règles précises de ce puisage.

Des expériences faites avec grand soin ont, d'autre part, démontré qu'il n'était pas indifférent de procéder, à un moment quelconque, à l'ensemencement de ces échantillons, et leur transport au laboratoire, lorsque

l'analyse ne pouvait pas être commencée sur place, devait, lui aussi, être opéré de façon particulière.

C'est à l'étude détaillée de ces règles spéciales concernant le puisage et le transport des eaux destinées à l'examen biologique que sera consacré ce chapitre.

Pour l'analyse chimique, le mode de puisage des eaux importe peu ; on ne prend guère plus de précautions que l'on n'en prend pour remplir une carafe d'eau fraîche et propre destinée aux repas. Pourvu que le flacon soit suffisamment grand et très propre, tout est bien.

Il n'en est plus de même en ce qui concerne le puisage des eaux destinées à l'analyse microbiologique : les précautions les plus minutieuses doivent, ici, être observées, et ce qu'il faut éviter par dessus tout, c'est l'apport de germes vivants provenant d'ailleurs que de l'eau qu'il s'agit de recueillir et d'examiner.

Il est, en un mot, indispensable que les récipients dont on se servira, quelles que soient leurs formes et leurs dimensions, soient absolument aseptiques.

Pour réaliser cette condition, deux moyens principaux sont à notre disposition : 1° la chaleur ; 2° le lavage avec une substance antiseptique.

L'action stérilisatrice de la chaleur est produite par le *four Pasteur* dont il a déjà été question (voy. fig. 2), dans lequel les récipients en verre, bouchés avec un fort tampon de ouate, peuvent être élevés à une température de 150 à 200°. Après semblable opération toutes les bactéries à l'état végétatif ou sporulaire, qui pouvaient exister dans l'atmosphère ou sur les parois internes des flacons, sont tuées, et l'air qui pénètre à nouveau dans les récipients se filtre à travers la bourre de coton et

s'y dépouille, comme cela a été mainte fois démontré, de tout germe vivant. Cette méthode de stérilisation par la chaleur sèche est de beaucoup la meilleure, mais on peut être obligé, dans certains cas, d'avoir recours à celle qui utilise les produits antiseptiques. Voici, en ce cas, quelle est, à mon avis, la meilleure manière de procéder :

Le flacon ou le ballon dont on veut se servir ayant tout d'abord été très bien rincé à l'eau acidulée puis à l'eau claire, on y verse une certaine quantité de *solution de sublimé au* 5/1000 que, par des mouvements variés, on force à entrer en contact successivement avec tous les points de la paroi interne ; la solution étant à dessein choisie très forte, les microorganismes existants ne tardent pas à être tués et la stérilisation du récipient s'obtient ainsi très vite par ce moyen détourné. On vide alors le sublimé et on le remplace par de l'*alcool* qui est destiné à redissoudre les traces du sel de mercure qui auraient pu rester adhérentes aux parois et agiraient plus tard défavorablement sur les germes de l'eau.

C'est ainsi que Pfuhl[1] cite un cas où des plaques ensemencées avec une eau suspecte étant restées absolument stériles on reconnut que les échantillons contenaient du sublimé qui avait été employé pour la stérilisation du vase.

Après avoir bien rincé avec l'alcool, on se débarrasse de celui-ci et on lave rapidement ou avec de l'éther, ou avec de l'eau longtemps bouillie.

Les bouchons destinés aux récipients doivent, eux

[1] Dr Pfuhl, Oberstabsarzt, *Centralbl. f. Bakter. u. Parasit.*, VIII, Bd, n° 21, 13 novembre 1890, p. 645.

aussi, être désinfectés de la même façon et flambés dans la flamme d'une lampe d'alcool, au moment du bouchage.

Il est bon d'avoir toujours tout prêts un certain nombre de récipients destinés au puisage de l'eau, afin de n'être point pris au dépourvu dans un cas urgent.

Le matériel étant quelque peu variable et les opérations différentes suivant l'état topographique de l'eau dont on doit entreprendre l'analyse, je diviserai en trois groupes principaux les cas qui peuvent se présenter :

1° *Eau stagnante ou courante.* — A. *Puisage superficiel.* — C'est le cas le plus ordinaire, celui qui se présente lorsqu'on veut analyser l'eau d'un ruisseau, d'une rivière, d'un fleuve, d'un lac, d'une mare, d'un égout, etc., voire même d'une source à son point d'émergence. Tout à fait au début de ses études sur l'analyse microbiologique de l'air et des eaux, Miquel[1] s'est servi pour opérer le puisage de l'eau de ballons ou de tubes effilés en pointe et scellés au moment où ils atteignaient la température de 200 à 300°, de façon à ce qu'un vide assez considérable y fût fait, tubes déjà indiqués par Pasteur. Depuis il les a abandonnés, bien qu'il en reconnût la perfection, sous prétexte qu'ils étaient trop fragiles et peu commodément transportables. Un certain nombre de bactériologues et moi-même avons repris cette idée de Miquel et fait subir à ces ballons quelques modifications qui les rendent en même temps beaucoup plus solides et très peu encombrants ; j'y insisterai bientôt.

[1] Miquel, *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris*, 1880, p. 495.

Miquel[1] conseille maintenant l'emploi de flacons de verre de 100 à 200 centimètres cubes, simplement bouchés au liège et auxquels on a, au préalable, fait subir le traitement suivant :

Les flacons bouchés tout d'abord avec un tampon de ouate sont stérilisés dans un bain d'air (four Pasteur), dont on élève graduellement la température jusqu'à 200° C.; puis, lorsqu'ils sont refroidis, on enlève avec une pince ou un fil métallique flambé le coton roussi qui est remplacé par un bouchon de liège passé dans la flamme d'un bec Bunsen ou d'une lampe à alcool jusqu'à légère carbonisation de sa surface.

Les flacons sont alors enveloppés dans une feuille de papier que, pour plus de sûreté, on cachète à la cire. On peut les conserver ainsi presque indéfiniment stériles et c'est dans cet état qu'ils sont remis aux personnes chargées du prélèvement.

Pour opérer celui-ci dans une eau accessible à la main, le flacon, débarrassé sur le lieu même de la prise de son enveloppe de papier, est débouché et plongé à quelques centimètres de profondeur dans la masse liquide, le goulot dirigé, en cas d'eau courante, en amont, c'est-à-dire en sens inverse du courant ; une fois rempli il est retiré, bouché avec le bouchon de liège que l'on n'a pas cessé de tenir au bout des doigts, sans contact possible avec un objet quelconque : habits, sol, etc., et rapporté au laboratoire dans la petite caisse glacière qui sera bientôt décrite.

Il faut, bien entendu, avoir grand soin durant tout le

[1] Miquel, L'Analyse bactériologique des eaux (*la Médecine moderne*, 6 novembre 1890, p. 855).

temps qu'exige le puisage à proprement parler de ne pas soulever le limon, le sable ou les graviers, ou même de ne pas frôler les bords de la nappe d'eau avec le col du flacon.

Des expériences très précises m'ont en effet démontré que dans ces cas les résultats de l'analyse sont absolument viciés et infiniment supérieurs numériquement à ce qu'ils devraient être.

Le Dr Joseph Tils[1], dans l'étude très complète qu'il a entreprise des eaux de conduite de Fribourg, s'est aussi servi tout simplement de petits ballons de 100 centimètres cubes de capacité, bouchés à la ouate et stérilisés par le chauffage à 150°-160° C.

Hueppe[2] conseille de prendre des bouteilles cylindriques de 10 centimètres cubes de capacité environ, munies d'un bouchon à l'émeri fermant très bien. Ces récipients une fois stérilisés sont coiffés d'un capuchon de gomme pure aseptique et enveloppés d'une feuille de papier à filtrer également stérilisée. Chacune de ces bouteilles est alors placée dans une boîte de bois fermant hermétiquement,

Pour recueillir l'eau on enlève avec les mains préalablement lavées le capuchon de gomme et on ne retire le bouchon de verre que sous l'eau même. Une fois que le liquide a pénétré dans la bouteille, on rebouche celle-ci et on l'essuie avec le papier qui servait à l'envelopper. On replace le capuchon et chaque flacon est réintégré dans sa boîte. Enfin toute une série de ces récipients

[1] Dr Joseph Tils, Examen bactériologique des eaux de conduite de Fribourg (*Zeitsch. f. Hygiene*, IX Bd., zweite Heft, 28 novembre 1890).

Hueppe, *Manuel technique*, 188J, p. 398.

peut être transportée au laboratoire dans une cassette remplie de glace.

MM. Fol et Dunant[1] ont décrit une sorte de pipette en forme de baïonnette destinée au puisage de l'eau superficielle ou profonde. Comme ce petit appareil est un des éléments esssentiels du procédé d'analyse qu'ils ont préconisé je n'ai pas cru devoir scinder l'exposé de la méthode des savants génevois, et, dans le paragraphe qui lui est consacré, je donnerai la description de cette pipette, accompagnée, au reste, d'une figure qui fera bien comprendre son mode de fonctionnement. Il en sera de même pour la pipette à effilure extrêmement fine, qui sert en même temps au puisage de l'eau et à sa répartition dans des conserves de bouillon, qui est employée par MM. Chauveau et Arloing ; on trouvera plus loin des détails sur la manière dont elle doit être fabriquée, et sur la façon dont on peut s'en servir.

On a encore recommandé pour recueillir l'eau destinée à l'analyse bactériologique les flacons d'Erlenmeyer[2], de 30 à 50 centimètres cubes de capacité, bouchés à l'ouate et stérilisés par la chaleur à 160°, en ayant soin de les ouvrir au moment de la récolte dans la flamme d'une lampe à l'alcool, les pipettes Chamberland.

Quels que soient la forme et les dimensions des récipients choisis, tous le sauteurs sont d'accord pour recommander une asepsie rigoureuse de leur intérieur et les précautions les plus minutieuses pour empêcher l'accès des germes de l'air; aussi est-on vraiment étonné de constater que, en 1886, M. Cahen dans sa thèse inaugu-

[1] H. Fol, *Archives des sc. phys. et nat.*, de Genève, 1884, t. XI.
[2] A. Lustig, *Diagnostica dei Batteri delle acque*, etc., Torino, 1890, p. 15.

rale sur l'*Analyse biologique des eaux* se contente tout simplement de prendre des flacons propres qu'*il remplit plusieurs fois à la pompe et vide ensuite pour se débarrasser des germes adhérents aux parois internes*, et ne se préoccupe nullement des bactéries atmosphériques sous le fallacieux prétexte que les flacons devant être ouverts plusieurs fois au cours des manipulations, ces dernières y auront fatalement accès à un moment ou à un autre [1].

En 1889, après avoir essayé plusieurs systèmes, j'en suis revenu à celui, préconisé tout d'abord par Miquel, des tubes-pipettes à longue effilure, dans lesquels grâce à une très haute température un vide partiel est préalablement obtenu. Ce système est, au reste, celui qui semble aujourd'hui avoir les préférences de la plupart des bactériologues. Flügge, en effet, Heræus, Pfuhl, Rietsch, pour n'en citer que quelques-uns, l'utilisent et paraissent en être très satisfaits. Je déclare pour ma part, que, sauf dans les cas où il est nécessaire d'avoir à sa disposition un volume considérable d'eau, je m'en suis toujours très bien trouvé. Afin de ne pas m'exposer à des redites toujours ennuyeuses, je me contenterai de décrire deux modèles de ces tubes-pipettes qui ne diffèrent guère l'un de l'autre que par le choix du verre, et surtout par leur mode de fabrication et par la façon dont le vide est fait dans leur intérieur.

Voici la description de la première variété empruntée *in extenso* à M. Rietsch [2] (de Marseille).

1 Dr L. Cahen, *Étude comparative des différents procédés d'analyse biologique des eaux potables*, thèse de Nancy, 1886, p. 8.

2 Rietsch, Recherches bactériologiques sur les eaux d'alimentation de Marseille (*Marseille médical*, 1890).

On prend des tubes à essai, stérilisés à 150° avec leur tampon de ouate ; on les étire longuement à la lampe au-dessous du bouchon de coton, puis par un trait de chalumeau on détache la partie inférieure avec son long bec ; la pointe de celui-ci est brisée alors avec des pinces flambées sous l'eau distillée stérilisée contenue dans un godet de verre également stérilisé. Un peu d'eau se précipite dans le tube à ce moment ; on le redresse et on le place, la pointe ouverte en haut, dans un petit appareil constitué de la façon suivante : trois toiles métalliques sont superposées sur un support au-dessus d'un bec de Bunsen ; sur les toiles on place un morceau de tuyau de poêle ayant une longueur à peu près égale à celle que les tubes doivent posséder finalement ; on installe les tubes à l'intérieur du tuyau, au-dessus de la flamme et la pointe en haut ; l'eau du tube entre en ébullition en chassant l'air ; bientôt faute d'eau liquide le jet de vapeur s'arrête à la pointe du tube, celui-ci se trouve alors porté à une haute température par le courant d'air chaud déterminé par le bec de Bunsen. Quand le jet de vapeur s'est arrêté depuis quelques instants on dirige la pointe du chalumeau sur l'extrémité du tube, tout en soulevant un peu celui-ci avec des pinces chauffées, et on scelle ainsi le tube stérilisé et vide d'air.

On fait une provision de pareils tubes que l'on peut même, pour plus de sûreté, soumettre à une nouvelle stérilisation. Les tubes que j'emploie pour le puisage superficiel sont tout à fait analogue à ceux de M. Rietsch, et n'en diffèrent que parce que, au lieu d'être fabriqués aux dépens d'un tube à essai ordinaire, dont les parois sont toujours trop minces et trop cassantes, ils le sont de toute pièce dans un tube à parois épaisses d'un

centimètre environ de diamètre, que l'on travaille à la lampe d'émailleur de façon à obtenir un tube, à extrémité inférieure arrondie et fermée, de 8 à 10 centimètres de longueur, terminé supérieurement par une longue effilure qui a jusqu'à 18 centimètres de longueur.

Cette effilure étant scellée, on opère un premier flambage dans le four Pasteur à 180° (comme il n'y pas ici de tampon obturateur de ouate, on peut utiliser de fortes températures, le coton ne risquant pas d'être entièrement carbonisé).

Une fois les tubes suffisamment refroidis on les retire du four Pasteur, on brise successivement la pointe de chacun d'eux et on les porte presqueau rouge dans le jet de flamme du chalumeau. Au moment où cette haute température est atteinte et où par conséquent l'air a été snffisamment raréfié dans l'intérieur on scelle à nouveau l'extrémité effilée et on a ainsi une pipette parfaitement aseptique, dans laquelle un vide très suffisant a été fait. On voit que je n'use pas ici pour obtenir la raréfaction de l'air de la volatilisation de l'eau ; j'ai, en effet, observé que cela n'était point nécessaire, et on évite ainsi le bris d'un certain nombre de tubes.

Les tubes-pipettes ainsi préparés en assez grand nombre sont placés au milieu d'une couche de ouate flambée ou dans une boîte de tôle stérilisée analogue à celle d'Israël. Lorsqu'on veut s'en servir pour le pui-sage de l'eau on les retire soit avec une pince flambée soit avec la main préalablement lavée au sublimé, et on plonge leur extrémité effilée dans l'eau que l'on veut recueillir; on casse alors avec une forte pince ou des ciseaux flambés cette extrémité sous le liquide

même qui monte très rapidement dans l'intérieur du tube[1].

Lorsque ce dernier est aux deux tiers rempli, on le retire et au moyen d'une lampe à alcool munie d'un chalumeau avec insufflateur (celle annexée aux thermo-cautères Paquelin convient très bien pour cet usage), on scelle à nouveau l'extrémité.

En opérant de la sorte on s'est mis à l'abri de presque toutes les chances de contamination étrangère, à condition d'aller vite mais avec précision.

Le docteur Pfuhl emploie des tubes très analogues aux précédents, et qui ne s'en distinguent guère que par la direction qu'il imprime à l'extrémité de la pointe effilée et par la forme de leur fond. Voici au reste comment cet auteur les décrit[2] :

Le récipient destiné à renfermer l'échantillon d'eau est constitué par un tube de verre d'environ 2 centimètres de diamètre, en verre très fusible ; il a environ 10 centimètres de long, est fermé d'un côté par un *fond plat* et étiré à l'autre extrémité en un tube capillaire de 6 à 8 centimètres de long pas trop fin. Aussitôt fabriqués les tubes sont portés au rouge, par conséquent stérilisés, et à ce moment on scelle la pointe du tube capillaire. A environ 1 centimètre de son extrémité, ce tube capillaire est recourbé *à angle droit*, et cela d'une part pour faciliter le remplissage des tubes, mais surtout pour empêcher la pénétration des germes de l'air pendant le temps qui s'écoule entre le remplissage et la fermeture

[1] Voir G. Roux, *Programme des analyses microbiologiques des eaux de la ville de Lyon*, 1890, p. 13.

[2] Dr Pfuhl, Procédés d'examen bactériologique des eaux *(Centralbl. f. Bakteriol. et Paras.*, 1890).

de la pointe par une nouvelle fusion. (Voir fig. 1 de Pfuhl, *loc. cit.*, p. 647.)

Pour remplir un de ces tubes de l'eau à examiner on passe plusieurs fois la pointe du tube capillaire dans la flamme d'une lampe à alcool, on la laisse refroidir et on en casse l'extrémité au-dessous de la surface de l'eau à l'aide d'une pince ou de ciseaux stérilisés.

Pfuhl fait comme moi le vide dans ses tubes en utilisant seulement les hautes températures sans recourir à l'eau et sa manière d'opérer est, on vient de le voir, identique; la façon dont il expédie ensuite ses échantillons d'eau ressemble aussi singulièrement, comme on s'en rendra compte bientôt, à celle que je préconise.

B. *Puisage profond.* — Le puisage de l'eau à des profondeurs variées peut être rendu nécessaire dans diverses circonstances, soit qu'il s'agisse de se procurer un échantillon de l'eau d'un puits qui n'a pas de pompe, soit qu'on veuille étudier, ce qui, en certains cas, présente un très grand intérêt, les tranches successives d'un lac, d'une rivière ou d'une nappe liquide quelconque.

Les procédés décrits dans le paragraphe précédent ne sont naturellement pas utilisables ici et il est alors indispensable d'avoir recours à quelques artifices, que je vais maintenant faire connaître.

Le moyen le plus commode, le plus simple, sinon le plus sûr, que l'on peut employer consiste à prendre tout simplement un flacon à verre épais bouché à l'émeri, stérilisé par un des procédés précédemment indiqués, lesté avec un poids ou une grosse pierre et solidement attaché par son goulot, qui devra être muni d'un rebord assez prononcé pour maintenir la corde de descente.

Ou bien le bouchon de verre sera enlevé au moment précis où le récipient sera plongé dans l'eau, ou bien, ce qui est préférable, il sera seulement mobilisé en quelque sorte avec les doigts de façon que, grâce à une cordelette qui lui est attachée, on puisse, une fois à la profondeur voulue, le soulever en retirant à soi la ficelle.

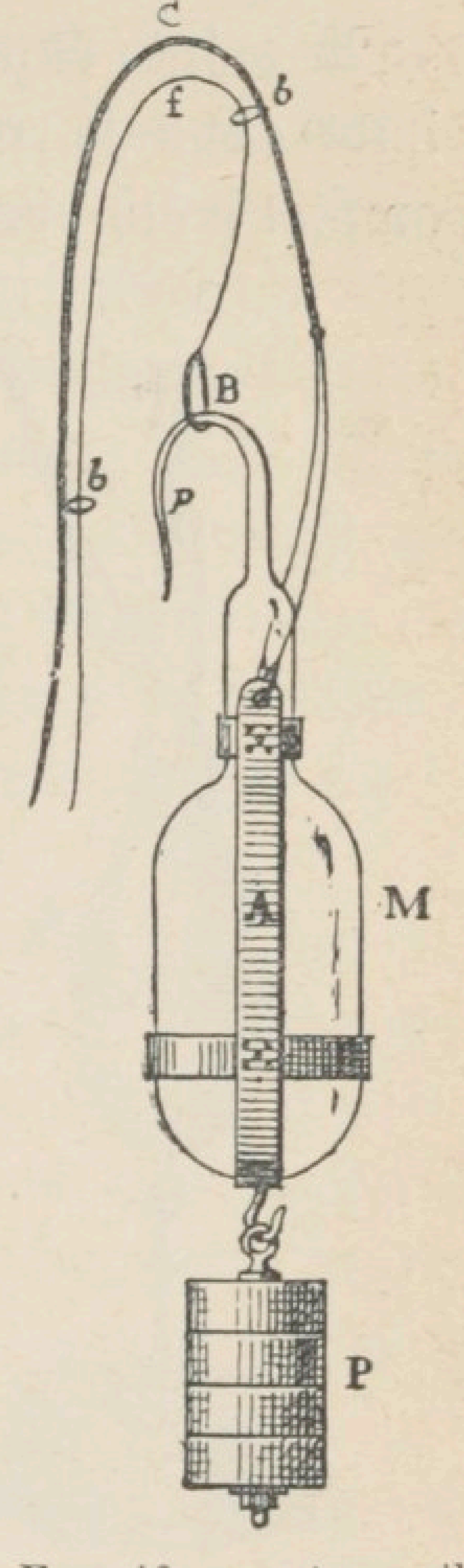


Fig. 16. — Appareil pour prélever les eaux à diverses profondeurs.

Ce procédé peut évidemment rendre d'incontestables services et il a surtout le grand mérite de pouvoir être improvisé séance tenante, le cas échéant. Il apporte cependant avec lui quelques causes d'erreur qui résultent de la pollution des parois externes du flacon et il faut lui préférer, lorsqu'il y aura possibilité de le faire, le très ingénieux appareil imaginé par M. Miquel qui, lors de l'Exposition de la Société de Médecine publique et d'Hygiène professionnelle de 1886, a été mis sous les yeux du public à la caserne Lobau. Il se compose[1] d'un petit matras d'essayeur d'environ 50 centimètres cubes de capacité, à pointe effilée, recourbée en col de cygne, maintenu verticalement dans une armature métallique. Le système, lesté d'un poids de plomb de 2 à 3 kilogrammes, est suspendu à une cordelette résistante, graduée en mètres et fractions de mètre au moyen d'anneaux et de nœuds.

1 Voir Miquel, Analyse bactériologique des eaux *(la Médecine moderne*, 6 novembre 1890, p. 856, fig. 1).

Le long de cette cordelette glisse dans les anneaux, espacés d'un mètre, un fil de cuivre terminé par une bague embrassant le col fragile recourbé du matras. L'instrument descendu à la profondeur voulue, par un mouvement brusque et sec, on relève la bague qui tranche la pointe capillaire du ballon scellé et l'eau se précipite dans le matras stérilisé où un vide partiel ou complet a été produit.

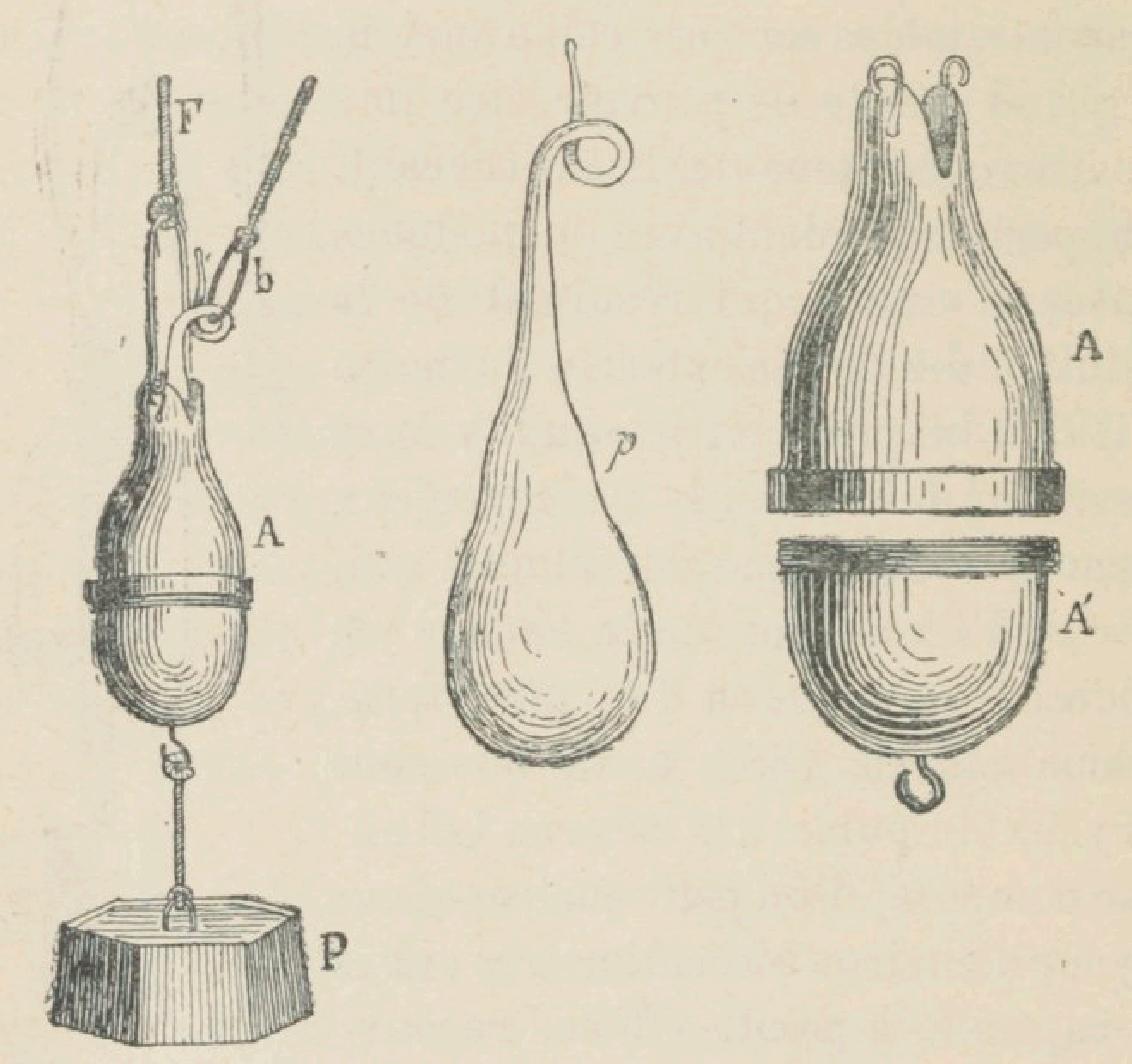


Fig. 17. — Appareil pour prélever les eaux à diverses profondeurs.

A. A' valves coniques se vissant l'une à l'autre ; P. poids fixé à la valve inférieure ; *p*. ballon de verre à col contourné en hélice ; F. cordelette de descente ; *b*, cordelette maintenant la bague destinée à briser le col du ballon.

J'ai fait construire, sur le modèle de celui de Miquel, un appareil plongeur qui en diffère par quelques particularités et qui m'a toujours rendu les plus grands

services. La figure 17 représente les détails de son agencement.

L'armature métallique est ici remplacée par une boîte ovoïde en étain, s'ouvrant à la façon d'un coco de chapelet, c'est-à-dire en deux valves coniques A A, qui se vissent solidement l'une à l'autre ; la valve inférieure, complètement close par en bas, porte, sur la partie extérieure de son fond, un anneau qui sert à fixer le poids P ; la valve supérieure s'entr'ouvre en haut par deux lèvres entre lesquelles peut facilement s'insinuer le col contourné du ballon récepteur ; cette même valve est en outre munie d'une solide anse, en fils de fer tordus, qui sert de point d'attache à la cordelette de descente F, laquelle se trouve, de distance en distance, comme celle de Miquel, marquée de nœuds qui indiquent les mètres et les demi-mètres.

Le matras est, comme forme générale, analogue à celui du bactériologue de Montsouris, mais, au lieu de n'avoir qu'une seule courbure à son col effilé, il présente à ce niveau *p* une véritable spire en tire-bouchon destinée à empêcher de glisser et de s'échapper la bague qui devra le briser et qui, elle-même, est attachée à une seconde cordelette *b*.

Le vide est fait dans les ballons de la même façon que dans les tubes-pipettes ci-dessus décrits, et les matras, une fois préparés, sont conservés enveloppés de ouate stérilisée et d'une feuille de papier à filtrer jusqu'au moment de l'usage.

Lorsque le puisage doit être opéré, le matras, débarrassé de la feuille de papier qui l'enveloppait, mais toujours entouré de la couche de ouate stérilisée dont l'extrémité en tire-bouchon émerge seule, est placé

dans la valve inférieure de l'appareil plongeur, son fond reposant, si cela est nécessaire, sur un nouveau tampon de coton destiné à amortir les chocs ; la valve supérieure, à travers l'ouverture de laquelle, grâce à sa forme spéciale, le col du matras s'engage de lui-même, est alors vissée sur l'inférieure et l'appareil est prêt à fonctionner. Ici, afin d'éviter des déboires au débutant, quelques détails, pouvant, au premier abord passer pour oiseux, sont indispensables.

Et, d'abord, deux personnes sont nécessaires pour exécuter la manœuvre que je vais décrire avec soin.

L'opérateur principal tient dans sa main gauche l'appareil plongeur muni de son poids et dans sa main droite un cylindre en bois autour duquel est enroulée la cordelette de descente F. A ce moment, un aide passe, dans la spirale terminale du col du ballon, la bague qui est, je l'ai dit, attachée à une fine, mais très solide cordelette enroulée, elle aussi, autour d'un cylindre de bois.

Cela fait, il faut que les deux manipulateurs agissent absolument de concert, sans précipitation et sans à-coup ; le premier, une fois l'appareil au contact de l'eau, laisse lentement se dérouler la corde dont il est chargé, jusqu'à ce qu'il ait atteint, ce que lui apprendra le compte des nœuds, la profondeur à laquelle il désire opérer ; le second n'a qu'à suivre scrupuleusement la façon d'agir de son compagnon, laissant filer sa cordelette avec la même lenteur et la même circonspection et en évitant surtout de trop tirer sur elle, ce qui pourrait amener prématurément la rupture du col[1].

[1] Afin d'éviter cet accident, plus fréquent qu'on ne croit avec un aide peu exercé, je fais construire mes ballons en verre assez épais

Mais, ce que je recommande par dessus tout, c'est que les deux opérateurs, durant la descente de l'appareil, maintiennent constamment leurs cordelettes respectives aussi éloignées que possible l'une de l'autre, de manière à représenter les deux côtés d'un angle aigu dont le sommet serait la pointe du ballon. Ceci a pour but, on le comprend, d'empêcher l'enroulement des deux cordes l'une autour de l'autre, enroulement qui se produirait fatalement si elles étaient parallèles, provoqué qu'il est en ce cas par le mouvement helicoïde de torsion de la cordelette de descente. C'est là le point délicat de l'opération qu'avec un peu d'habitude, et en suivant strictement les prescriptions que je viens de formuler, on arrive bientôt à éliminer complètement.

Une fois la profondeur voulue atteinte, le premier opérateur fixe solidement dans sa main gauche le cylindre de bois et la corde de descente, puis il prend de son aide, dans sa main droite, le second cylindre, donne un coup sec de bas en haut et a la sensation d'une résistance vaincue, le col du ballon a cédé et a été brisé; il remet alors la cordelette de la bague à l'aide et remonte aussi rapidement que possible l'appareil plongeur en enroulant la corde de descente autour de son cylindre. A sa sortie de l'eau la boîte métallique est dévissée, le matras retiré avec précautions, et sa pointe ouverte est immédiatement scellée au moyen de la lampe à alcool munie de son chalumeau que j'ai déjà indiquée. Le ballon entouré à nouveau d'une forte couche de ouate fraîche est alors placé dans un cylindre *ad hoc*, un peu analogue comme forme aux boîtes en bois qui renferment les fla-

pour que le col lui-même soit assez résistant et qu'une forte secousse soit nécessaire pour en déterminer la rupture.

cons d'élixir de la Grande Chartreuse et mis, si cela est nécessaire, dans la caisse à glace.

Je ne saurais trop recommander le procédé que je viens de décrire qui ne demande comme outillage que des objets que le premier ferblantier venu et n'importe quel souffleur de verre pourront fournir, et donne d'excellents résultats.

Fol a adapté, comme je l'ai déjà dit, sa pipette en baïonnette au puisage des eaux profondes ; on trouvera bientôt les indications nécessaires pour l'intelligence de cette modification.

2° *Eau des fontaines, des pompes ou des robinets.* — Je serai très bref pour ce qui concerne le puisage des eaux qui s'écoulent en jet continu ou intermittent et qui proviennent de fontaines, de pompes ou de robinets branchés sur une canalisation générale.

Les récipients dont il a déjà été question sont encore ceux que l'on utilise dans ces différents cas, et plus particulièrement les flacons, bouteilles, ballons bouchés au liège, à l'émeri ou à la ouate, stérilisés d'avance et ouverts au moment précis où l'eau doit être recueillie.

Pfuhl cependant *(loc. cit.)* emploie même pour les pompes et robinets les tubes-pipettes dans lesquels le vide a été fait, en plaçant la pointe directement dans le jet d'écoulement ; lorsque celui-ci est très fort et très uniforme l'opération peut réussir, mais lorsqu'au contraire il est étroit et dispersé, on risque au moment où on brise la pointe de faire dévier celle-ci et de n'aspirer que de l'air au lieu d'eau.

Aussi pour ces sortes de récoltes je préfère de beaucoup les flacons stérilisés dans lesquels on laisse couler purement et simplement l'eau à examiner. Une recom-

mandation au sujet de laquelle tous les auteurs sont d'accord, et qui concerne les cas où l'écoulement est intermittent, est celle-ci : ouvrir le robinet et laisser l'eau s'écouler pendant au moins dix ou quinze minutes avant d'opérer le prélèvement d'un échantillon. Si l'on agissait autrement on s'exposerait à recueillir non seulement une eau souillée de dépôts terreux, mais encore une eau chaude, ayant séjourné longtemps dans des conduites secondaires et très différente au point de vue microbiologique de celle qui circule dans les grandes artères de la canalisation générale.

Toutes les précautions indiquées au paragraphe précédent sont applicables ici ; il n'y a donc pas lieu d'y revenir.

3° *Eaux météoriques : pluie, neige, grêle.* — Pour recueillir ces eaux, soit liquides, soit solides, qui tombent de très haut et en petits filets parallèles, parfois assez espacés les uns des autres, quelques instruments spéciaux sont nécessaires.

Le plus simple de tous, que j'ai parfois employé pour recueillir la pluie ou la neige, consiste en un tube à essai d'assez grand diamètre, bouché avec un fort tampon de ouate, stérilisé au four de Pasteur ; au moment de s'en servir on introduit entre la paroi du tube et le tampon de coton l'extrémité taillée en biseau d'un petit entonnoir très fortement évasé que l'on vient de flamber dans la flamme d'un bec de Bunsen ou d'une lampe à alcool et que l'on a laissé refroidir. Ce petit appareil étant monté sur un support est exposé à la pluie ou à la neige jusqu'à ce qu'une quantité suffisante se soit rassemblée dans le fond du tube ; s'il s'agit de neige ou de grêle et que leur liquéfaction se fasse trop attendre, on

hâte celle-ci en promenant légèrement la flamme d'une lampe à alcool sur tout le pourtour de la paroi externe de l'entonnoir.

M. Miquel emploie depuis une quinzaine d'années à l'observatoire de Montsouris, pour le même objet, un petit appareil qu'il appelle *udomètre*[1], constitué de la façon suivante :

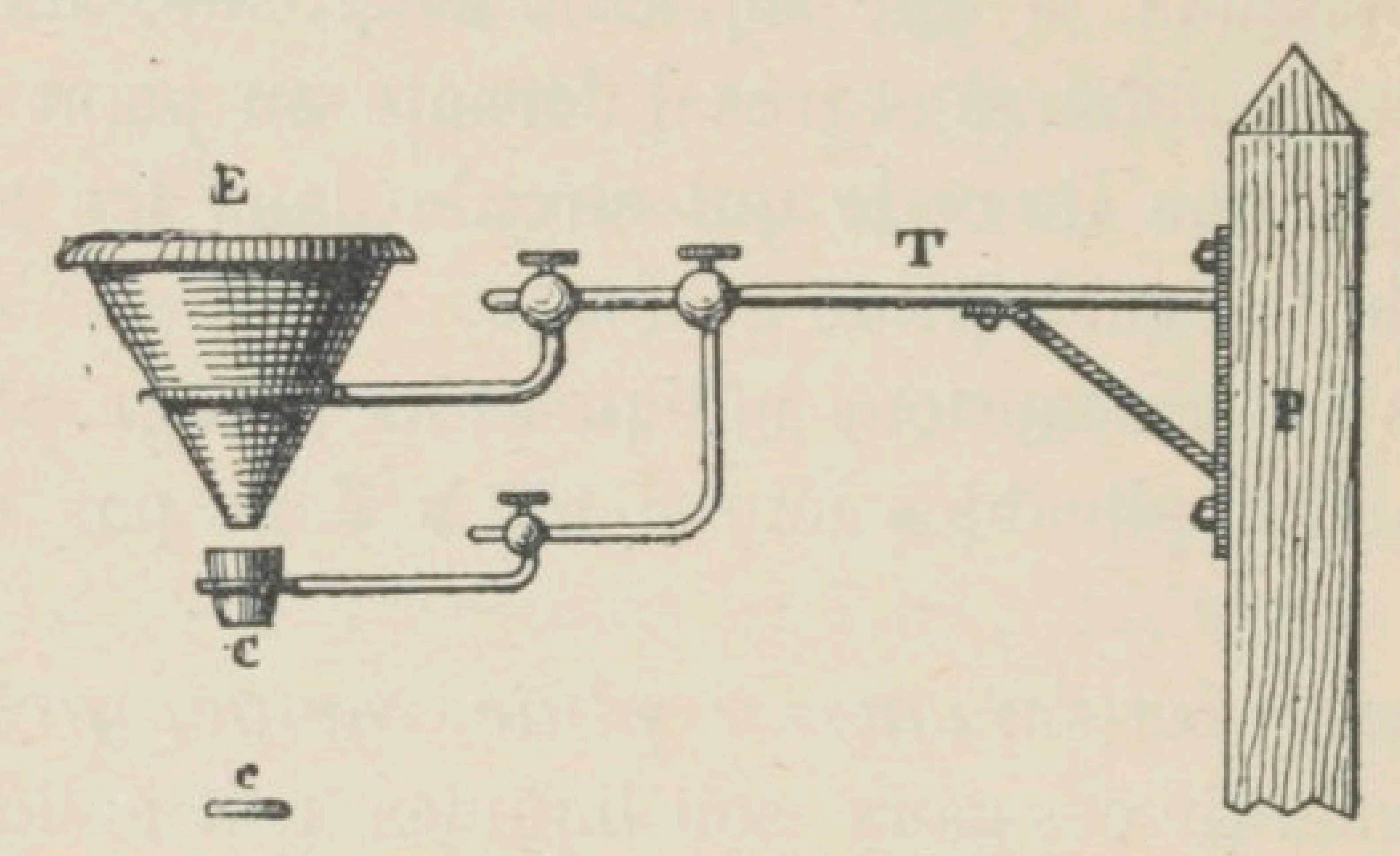


Fig. 18. — Appareil pour récolter les eaux de pluie.

Sur une tige de fer horizontale, solidement fixée à un poteau de bois vertical planté en terre, on adapte à une hauteur de 2 mètres un entonnoir en cuivre nickelé ou argenté, soigneusement flambé sur le lieu même de l'expérience. Au-dessous de cet entonnoir on dispose un creuset de platine porté préalablement au rouge.

L'agencement des différentes parties de cet udomètre doit être tel que l'on puisse retirer et remettre en place le vase de platine sans toucher aux autres pièces de l'appareil, ce qui permet de récolter séparément la pluie au

1 Miquel, l'Analyse bactériologique des eaux (la *Médecine moderne* 6 novembre 1890, p. 857, fig. 2). — Voir aussi les *Annuaires de l'Observatoire de Montsouris*, et notamment l'année 1885, p. 607, fig. 27.

commencement, pendant et à la fin des averses ou des orages. Un petit couvercle également en platine, qui s'adapte exactement sur la capsule, sert à préserver celle-ci des dangers de contamination atmosphérique durant son transport et son séjour au laboratoire.

Miquel insiste particulièrement pour que cet udomètre soit suspendu le plus haut possible; s'il n'est placé, en effet, qu'à 50 centimètres ou 1 mètre au-dessus du sol, il peut arriver que la pluie en tombant sur la terre détrempée fasse rejaillir dans l'entonnoir et dans le vase récepteur des gouttelettes d'eau boueuse qui vicient dans des proportions considérables les opérations analytiques.

Il ne faut pas non plus, sauf lorsque la pluie est fine et continue, comme en automne et au printemps, laisser l'appareil exposé à l'air extérieur pendant plusieurs heures, car, pendant les éclaircies, des poussières atmosphériques viennent s'accumuler dans l'entonnoir et sont entraînées ensuite par la première ondée qui survient dans la capsule de platine.

Il peut être nécessaire, lorsque la température extérieure est trop élevée, de refroidir l'eau de pluie au fur et à mesure qu'elle est recueillie. Pour obtenir ce résultat, Miquel a fait construire il y a neuf ans, par la maison Wiesnegg, un long tube de cuivre argenté, fermé à son extrémité inférieure, dans lequel l'eau de pluie vient s'accumuler ; ce tube plonge lui-même dans un manchon cylindrique hermétiquement clos contenant du sulfure de carbone où l'on fait barboter de l'air au moyen d'une pompe aspirante, de façon à avoir une température voisine de 0° C.

On peut encore obtenir une réfrigération suffisante

en utilisant les propriétés du chlorure de méthyle ou de l'acide carbonique liquide [1].

Il me reste, avant de terminer l'étude des divers procédés de puisage de l'eau, à indiquer quelques précautions de moindre importance, mais qu'il faut cependant avoir bien soin de ne pas omettre.

Ne pas manquer de noter très exactement la température de l'eau au moment de sa prise, et aussi, d'après Tils [2], la température diurne moyenne, cet auteur ayant remarqué que ses variations avaient une grande influence sur la température de l'eau et, par suite, indirectement sur la quantité des bactéries. (Se munir, par conséquent, d'un bon thermomètre.)

Enregistrer aussi l'état de limpidité ou de trouble des eaux puisées, et, lorsque cela sera possible, la hauteur à l'étiage pour une rivière ou pour un fleuve.

Enfin, dernière recommandation de la plus haute importance, avoir bien soin d'apposer sur chaque tube ou ballon, immédiatement après le puisage, une étiquette indicatrice, libellée de telle sorte qu'aucune erreur ou confusion ne soit plus tard possible.

Des expériences directes ont montré que, dans une même eau, conservée à l'abri de toute contamination accidentelle, le nombre des bactéries qu'elle renferme s'élève dans de très notables proportions durant les heures et, à plus forte raison, durant les jours qui suivent son puisage.

Quelques-unes de ces expériences, empruntées à Miquel, sont à ce sujet très concluantes.

1 Miquel, *la Médecine moderne*, 6 novembre 1890.
2 Dr J. Tils, *loc. cit.*

I. Eau de la Dhuis, puisée à l'aqueduc de Ménilmontant, en été, à 11 h. 30 du matin environ; sa température est à ce moment de 13°,2.

On pratique les trois analyses suivantes

	Température de l'eau	Bactéries par c. c.
A midi.	16°,6	57
A 1 h. 30. . . .	19°,5	143
A 3 heures. . . .	20°,9	456

La température de l'air ambiant était de 21°,5.

II. Eau de la Vanne, prise au réservoir de Montrouge :

	Température de l'eau	Bactéries par c. c.
Analyse immédiate.	17°	56
24 heures plus tard.	21°,2	32.140

III. Eau de la Vanne, puisée au réservoir de Montrouge.

	Température de l'eau	Bactéries par c. c.
Immédiatement. .	15°,9	48
2 heures après. . .	20°,6	125
1 jour après. . .	21°,0	38.000
2 jours après. . .	20°,5	125.000
3 jours après. . .	22°,3	590.000

IV. Eau de la Vanne placée, après la première analyse, à l'étuve à 30° :

	Bactéries par c. c.
Analyse immédiate.	71
24 heures après.	71.000
96 heures après.	1.070.000

Je pourrais multiplier ces exemples, mais ceux qui viennent d'être signalés suffisent largement à démontrer la nécessité absolue de pratiquer une analyse bactériologique des eaux le plus vite possible après le moment du puisage, lorsque les circonstances s'op-

posent, ce qui est le cas ordinaire, à ce que les ensemencements se fassent immédiatement, à l'endroit même où l'eau a été recueillie.

Les chiffres précédents nous montrent encore que, non seulement on doit se hâter, mais qu'il faut, en outre, lorsque la distance est considérable entre le lieu du puisage et le laboratoire, prendre, pour le transport des échantillons, des précautions sur lesquelles je vais maintenant insister.

Certaines des analyses comparatives précédemment rapportées nous ont déjà montré que, même à une température relativement peu élevée et assez voisine de celle de l'eau à son point d'origine, la pullulation des bactéries était des plus actives.

D'autres analyses, instituées en vue de la démonstration de ce point spécial, ont prouvé de façon très nette que des températures encore plus basses, bien inférieures à celles des eaux, 9° à 10°, par exemple, enrayaient bien quelque peu, mais n'empêchaient nullement la multiplication des Schizophytes. Pour obtenir, en quelque sorte, l'immobilisation de ces petits êtres, il faut avoir recours à un degré thermométrique voisin de celui de la glace fondante, c'est à dire de 0°; et encore n'est-on pas toujours et à coup sûr à l'abri des chances d'erreur; on a, en tout cas, singulièrement atténué ces dernières. Les expériences suivantes, de Miquel, peuvent être considérées comme typiques à ce point de vue.

Eau de la Vanne, anal. imméd.	— 28 bact.	après 26 h.	à 3°,3,	30 bact.
— St-Laurent (S.-Infre) an. im.	— 8 —	après 48 h.	—	7 —
— — —	— 6 —	après 24 h.	—	7,5 —
— — —	— 7,5 —	—	—	8,3 —

L'écart est ici insensible; il est un peu plus accentué

dans l'analyse comparative du puits d'essai de M. Lefort, creusé dans un banc de sable de la Loire :

Analyse immédiate ; 55 bactéries ; après quarante-huit heures, à 0° : 90 bactéries.

La différence ci-dessus indiquée est en plus dans l'eau conservée, mais parfois elle peut se traduire par une diminution dans le chiffre des microorganismes. Témoin l'essai suivant, qui porte sur de l'eau distillée stérilisée, ensemencée avec deux gouttes d'eau de la Vanne.

1er dosage	immédiat. .	128	bactéries	par centimètre	cube.
2e —	24 h. après. .	75	—		—
3e —	4 jours —	8,3	—		—

Afin de ne pas attribuer à cette dernière expérience une importance exagérée, il est bon de noter que l'eau, dans ce cas, était exceptionnellement privée des matériaux nutritifs que la plus pure renferme toujours en proportions suffisantes pour le développement des bactéries.

Un fait extrêmement curieux, touchant le mécanisme de l'invariabilité relative du nombre des germes vivants dans une eau suffisamment refroidie, a été mis en lumière par Miquel. Cet habile observateur a démontré que cela tenait, non pas à ce que chaque individu microbien se trouvait en quelque sorte pétrifié pendant un certain temps et incapable de se diviser, mais bien à une sorte de balance qui s'établit entre ce qu'il nomme très pittoresquement les décès et les naissances. Certaines espèces, moins aptes à résister à de basses températures, périssent, tandis que d'autres, mieux armées, résistent et font même souche de nouvelles générations qui remplacent ainsi celles qui disparaissent.

Par une chance inespérément favorable aux microbiologistes, il se rencontre qu'en règle générale ces naissances compensent assez exactement la somme des décès, de façon que, l'équilibre se rétablissant à chaque instant, l'ensemble paraît, à quiconque n'approfondit pas, rester stationnaire.

Mais pour peu que l'on cherche, comme Miquel, à se rendre compte de ce que devient telle ou telle espèce considérée en particulier, au point de vue du nombre de ses représentants respectifs à un moment donné, si à l'analyse quantitative on joint l'analyse qualitative, on ne tarde pas à s'apercevoir du bien-fondé de l'observation précédente.

Voici comment le savant bactériologue de Montsouris rapporte une des nombreuses expériences qu'il a faites à ce sujet[1] :

De l'eau de la prairie des filtres de la ville de Toulouse est conservée pendant quatre jours dans la glace fondante. Toutes les vingt-quatre heures, cette eau, qui accuse assez fidèlement *le même chiffre moyen de bactéries* (650 à 776), fait l'objet d'un double dosage quantitatif vis-à-vis d'un *bacterium* mobile donnant une *coloration violette*, et d'un *bacille* fournissant une *tache rouge*, tous deux liquéfiant rapidement la gélatine. Voici les résultats de ces dosages à la fois quantitatifs et qualitatifs :

	COLONIES PAR C. C.	
	du bactérium violet	du bacille rouge
Dosage immédiat.	29	3
24 heures après.	9	16
48 — —	2	30
72 — —	0	47

1 P. Miquel, De l'analyse bactériologique des eaux *(la Médecine moderne*, 13 novembre 1890, p. 875).

Le bacille violet, ajoute Miquel, nous apparaît, dans cette expérience, comme un être résistant peu à la température de 0°, alors que le bacille rouge peut encore s'y multiplier assez rapidement.

L'expérience est, en tout cas, des plus démonstratives, et elle n'est pas isolée.

Le Dr Justin Karlinski en a fait d'analogues en 1889[1], et ses essais sont d'autant plus intéressants qu'ils portent sur des organismes essentiellement pathogènes, qui, mélangés avec des espèces saprophytes, se trouvent vaincus par ces dernières dans la lutte pour l'existence; j'aurai, du reste à revenir bientôt sur ces analyses dont je me contente ici de rapporter quelques-unes :

Il s'agit de l'eau de source alimentant la ville d'Insbruck, ensemencée, sans avoir au préalable été stérilisée, avec les bacilles d'Eberth, du choléra et du charbon et maintenue constamment à 8° C.

	B. d'Eberth.	B. du choléra.	B. du charbon.
Au début. . .	26.000	8.000	11 000 par c. c.
Après 1 jour. .	21.000	1.200	7.000 —
— 2 jours. .	14.000	60	263 —
— 3 — . .	6.100	0	10
— 4 — . .	2.000		0
— 5 — . .	641		
— 6 — . .	0		

Et au fur et à mesure que les bactéries pathogènes diminuaient, jusqu'à disparaître complètement, les microbes aquatiques ordinaires qui, au début des analyses, étaient respectivement de 7, 9 et 39, augmentaient pro-

1 Dr J. Karlinski, Ueber das Verhalten einiger pathogener Bacterien im Trinkwasser *(Arch. f. Hygiene*, IX, 1889).

gressivement et se multipliaient même, au dire de Karlinski, beaucoup plus activement que dans une eau ordinaire, ce que l'auteur explique par l'apport relativement considérable de matériaux nutritifs fournis par les cadavres des organismes pathogènes.

Dans une autre série d'expériences plus récentes, Karlinski[1] a constaté que le bacille d'Eberth disparaissait d'une eau de citerne placée dans les conditions normales et dans laquelle on l'avait copieusement ensemencé, ordinairement dans l'espace de trois jours.

Je ne veux, pour le moment, rapporter que l'expérience suivante, dans laquelle le résultat de la concurrence vitale des microorganismes a été expressément notée.

La citerne, parfaitement curée, reçoit 3 hectolitres d'eau de puits, relativement pure et pauvre en germes. Tous les quatre jours on ajoute à cette eau 150 centimètres cubes de selles typhiques renfermant de grandes quantités de bacilles d'Eberth, et des analyses quotidiennes sont effectuées. Or, on cesse d'avoir des colonies typhiques à partir du douzième jour et on constate alors que *les bactéries banales ont prodigieusement augmenté de nombre.*

De sembables constatations ne sont pas dépourvues d'intérêt; mais je ne veux, pour le moment, en retenir que cet enseignement : qu'il n'est point indifférent de conserver, pendant un temps plus ou moins long, même à basse température, même dans la glace, les échantillons d'eau que l'on doit analyser.

[1] J. Karlinski, Ein Beitrag zur Kkenntniss des Verhaltens des Typhusbacillus und Trinkwasser (*Arch. f. Hygiene*, X, p. 464, 1890).

Le bactériologue se trouve malheureusement trop souvent à la merci des circonstances; mais s'il ne peut pas toujours procéder de la meilleure façon, il doit constamment chercher, par tous les moyens utilisables, à s'en rapprocher le plus possible.

Je vais maintenant étudier successivement le mode de transport des eaux, suivant qu'elles sont expédiées de loin et par chemin de fer, par exemple, ou qu'elles sont apportées au laboratoire après un court trajet, par l'opérateur lui-même ou un de ses aides.

Mode de transport pour les grandes distances. — Miquel, dont il est toujours sage de suivre les avis en semblable matière, conseille de procéder de la façon suivante [1].

Le flacon stérilisé dans lequel l'eau a été recueillie est bouché et cacheté à la cire d'Espagne, puis enveloppé de papier; il est alors introduit à frottement dans une boîte métallique, de forme cylindrique, dans laquelle il ne doit subir aucun ballottement.

Cette première boîte est placée dans une seconde plus large de quelques centimètres, dont l'espace intermédiaire est rempli de sciure de bois. Le tout est déposé dans une boîte métallique beaucoup plus vaste qu'on remplit de glace concassée en gros morceaux (3 à 4 kilogrammes pour un long trajet); enfin, cette troisième et dernière boîte, bien exactement fermée, est enfouie, dans de la sciure de bois, dans une caisse de bois munie d'un couvercle à charnières et d'une poignée (fig. 19).

1 Miquel, De l'analyse bactériologique des eaux *(la Médecine moderne*, 13 novembre 1890, p. 876).

Plus simplement encore on peut utiliser une boîte de zinc carrée ou cylindrique, dans laquelle on introduit, en les calant soigneusement, les flacons ; on place cette boîte au centre d'une caisse de bois qui renferme un mélange de glace et de sciure et cette caisse est, à son

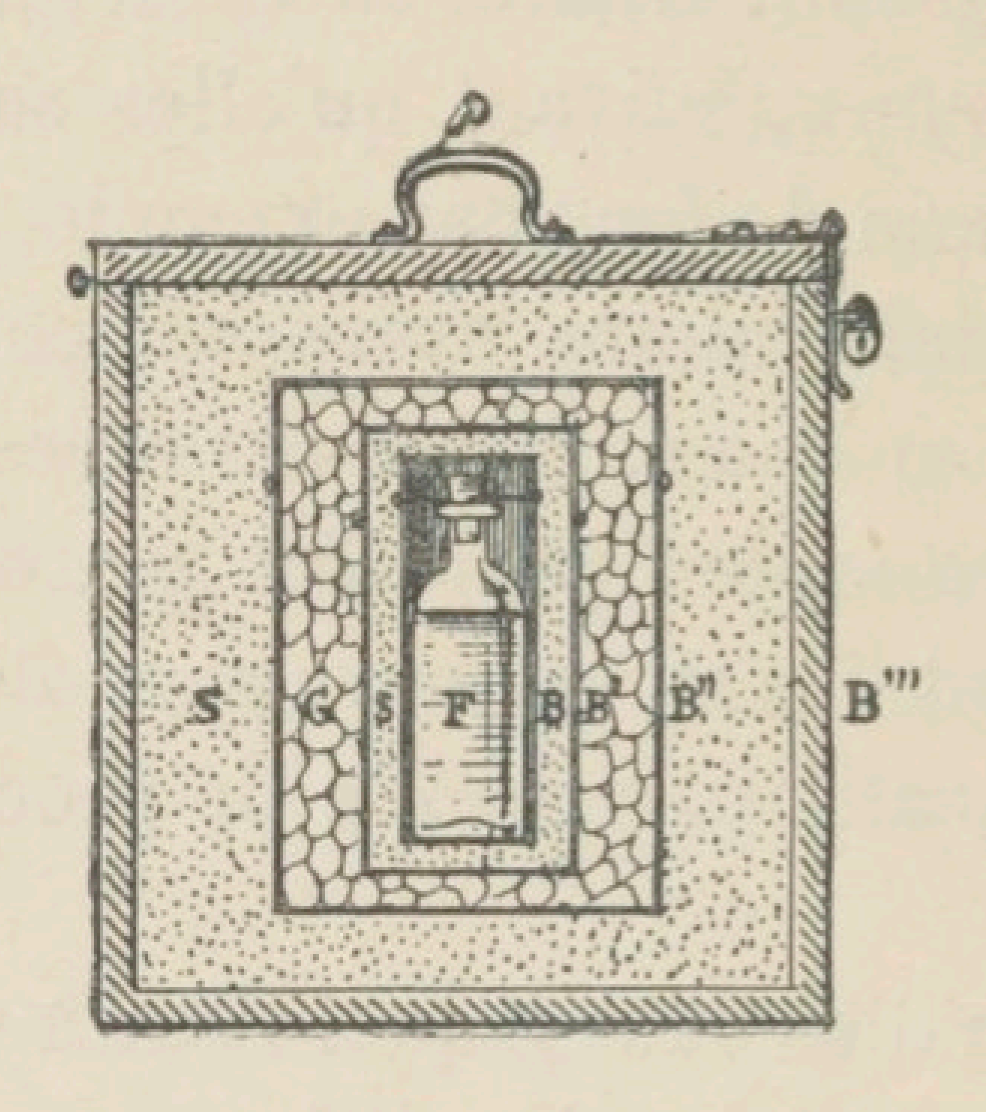


Fig. 19. — Glacière pour les long voyages.

tour, placée au milieu d'une seconde beaucoup plus grande, garnie d'une épaisse couche de sciure ; la glace fond lentement dans la sciure et le froid produit est très vif.

M. Rietsch, professeur à l'École de médecine et de pharmacie de Marseille, a fait construire une boîte spéciale, un peu différente des précédentes, et qui, bien que devant être surtout utilisée pour les courts trajets et portée à dos d'homme, pourrait, néanmoins, avec quelques modifications de dét ail, être employée pour les envois à longue distance. L'agencement de cette boîte est spécialement disposé en vue de recevoir les tubes effilés à une extrémité dont M. Rietsch, comme moi-même, se sert pour le puisage de l'eau, de préférence aux flacons.

Voici la description que donne de son appareil le bactériologue marseillais[1] :

Cette boîte rectangulaire en zinc est divisée, par un diaphragme horizontal percé de petits trous, en deux compartiments très inégaux. L'inférieur, beaucoup plus bas, est destiné à recevoir l'eau provenant de la fusion de la glace et communique au dehors par un orifice latéral fermé par un tube de caoutchouc et par une tige de verre ; on peut donc, par cet orifice, déverser à volonté l'eau provenant de la fusion de la glace. Le compartiment supérieur, de beaucoup le plus grand, est divisé en trois par deux cloisons verticales en zinc ; celles-ci séparent deux parallélipipèdes rectangles extérieurs ou plutôt latéraux, destinés à être remplis de glace, d'un compartiment médian, dans lequel s'engage à frottement doux une boîte en zinc destinée à recevoir les tubes de verre. Cette dernière boîte, ayant son couvercle spécial, possède aussi, vers son tiers inférieur, un diaphragme percé de trous circulaires d'un diamètre un peu plus fort que celui des tubes en verre. Sur le fond de cette boîte et correspondant aux trous du diaphragme sont soudés de petits cylindres creux en zinc dans lesquels s'engage l'extrémité inférieure des tubes de verre. Pour éviter la rupture des tubes au moment où on les met en place, on verse sur le fond de la boîte intérieure du collodion élastique ; par évaporation, il reste une couche adhésive et élastique de fulmicoton très propre à amortir les chocs.

La boîte extérieure, enfin, possède un couvercle spé-

1 Rietsch, Recherches bactériologiques sur les eaux d'alimentation de la ville de Marseille *(Marseille médical*, 1890).

cial, qui est recouvert, ainsi que la boîte elle-même, de quatre couches alternatives de papier et de drap, afin de retarder la fusion de la glace. Une courroie fixée à la boîte par des brides en laiton permet de porter le tout en sautoir.

Un appareil de transport des eaux destinées à l'analyse bactériologique, qui m'a paru assez commode et qui a pour lui le mérite de la simplicité et du bon marché, c'est le modèle adopté par le ministère de la guerre et qui est couramment employé dans les laboratoires de l'armée.

Il consiste en : 1° une caisse en bois à fortes parois, de 33 centimètres de long, ayant même dimension en largeur et 32 centimètres de hauteur : elle est donc presque exactement cubique et elle est munie d'un couvercle également en bois qui se visse et se dévisse avec la plus grande facilité ; 2° une seconde caisse en bois moins épais, doublée intérieurement de zinc, de 26 centimètres de longueur et largeur sur 25 centimètres de hauteur, munie supérieurement d'un cadre en bois recouvert de zinc, horizontal et entrant presque à frottement dans la première caisse, ce qui empêche tout ballottement. Cette seconde caisse est fermée par un couvercle bois et zinc, maintenu, lui aussi, avec des vis ; 3° enfin, une troisième caisse beaucoup plus petite, de 15 centimètres en long et en large, sur 13 centimètres 1/2 de hauteur, également doublée de zinc et munie d'un couvercle vissé. C'est dans cette petite caisse que sont placés, noyés dans de la sciure de bois et enveloppés de plusieurs doubles de papier à filtrer, les flacons ou tubes-pipettes qui contiennent les échantillons d'eau. Dans l'espace libre ménagé entre les

caisses 2 et 3 se trouvent des fragments de glace mêlés à de la sciure de bois, et, enfin, pour éviter tout choc et retarder la fusion de la glace et l'échauffement du centre de l'appareil, on remplit encore de sciure de bois l'espace assez restreint qui sépare les caisses 1 et 2. Cet appareil n'est pas trop lourd ni trop encombrant, il est solide, facile à construire, d'un prix peu élevé, et peut servir presque indéfiniment, le vissage des différents couvercles empêchant la détérioration de ceux-ci.

En Allemagne, les médecins militaires se servent, pour le transport des échantillons d'eau à analyser microbiologiquement et leur envoi aux stations de recherches, d'une caisse spéciale, qui a été décrite récemment par le médecin militaire docteur Pfuhl [1].

Les tubes-pipettes qui servent au puisage de l'eau et qui sont presque absolument semblables à ceux que j'emploie depuis plusieurs années et que j'ai déjà décrits, sont tout d'abord emballés avec soin, entourés de ouate, dans des cylindres en zinc, munis d'un couvercle, de 4 centimètres environ de diamètre et de 22 centimètres de hauteur. Ces cylindres en zinc sont eux-mêmes placés, au nombre de 6, dans une caisse à glace, construite avec de fortes lames de zinc, de 22 centimètres de hauteur sur 20 centimètres en largeur et en longueur, et s'y trouvent maintenus à l'aide de talons (voir la figure 3 du mémoire de Pfuhl) ; les dimensions réciproques de cette caisse et des cylindres sont telles, que ces der-

1 Ueber ein an der Untersuchungsstation des Garnison-Lazareths Cassel übliches verfahren zum Versande von Wasserproben für die bakteriologische Untersuchung von oberstabsarzt Dʳ Pfuhl (*Centralb. f. Bakter. u. Paras.*, VIII Bd, nº 21, 13 novembre 1890, p. 645 et suiv., avec 3 figures).

niers arrivent juste en contact avec le couvercle de la caisse qui les fixe en place et les empêche de ballotter. Quant aux intervalles entre les divers cylindres, ils sont comblés avec de la laine de bois mélangée à des fragments de glace.

La caisse de zinc est à son tour placée dans une caisse spéciale en bois [1], munie d'un couvercle à charnières et d'une poignée et l'espace libre entre les deux caisses est rempli de sciure ou de laine de bois.

Il est recommandé aux directeurs de laboratoires qui expédient cet appareil au dehors à des médecins qui peuvent parfois ne pas être parfaitement familiarisés avec les procédés de la technique bactérioscopique, de coller, à l'intérieur du couvercle de la caisse de bois, l'instruction suivante, ce qui constitue une excellente précaution :

INSTRUCTION POUR RECUEILLIR L'EAU DESTINÉE [2] A L'EXAMEN BACTÉRIOLOGIQUE

1° Les tubes-pipettes qui recevront l'eau doivent être portés au rouge avant d'être scellés; l'air qu'ils renferment est ainsi très raréfié.

2° Lorsque l'on brise sous l'eau à l'aide d'une pince ou de ciseaux flambés l'extrémité capillaire du tube préalablement passée dans la flamme d'une lampe à alcool puis refroidie, le tube-pipette se remplit immédiatement d'eau jusqu'à la moitié environ.

3° Pour puiser un échantillon d'eau destiné à l'examen bactériologique on casse, comme il vient d'être dit, l'extrémité effilée du tube au-dessous du niveau de la nappe liquide ou bien, s'il s'agit

[1] L'appareil complet pour 6 échantillons d'eau, dont le poids n'excède pas 10 kilogrammes et qui coûte 12 marks, non compris les cylindres de zinc qui valent 20 pfennigs pièce, se trouve chez Hermann Faubel, pharmacien à Cassel.

[2] Dr Pfuhl, *loc. cit.*

d'une fontaine, dans le jet de celle-ci après avoir eu soin de laisser couler l'eau pendant au moins dix minutes.

4° On sèche ensuite immédiatement le tube et particulièrement son effilure et on en scelle l'extrémité dans la flamme d'une lampe à alcool.

5° Après avoir laissé refroidir, on secoue le tube en tous sens pour s'assurer que la fermeture est bien complète ; dans le cas contraire on scelle à nouveau dans la flamme.

6° Quand la température atmosphérique est supérieure à 0° C., les caisses de zinc doivent toujours être envoyées avec de la glace.

Miquel recommande avec juste raison, et c'est là une recommandation qu'il ne faut jamais oublier, d'avertir le directeur d'octroi de la ville où l'analyse doit être faite de l'arrivée de l'eau, en lui signalant très exactement les adresses et autres marques distinctives de la caisse qui la renferme. Faute de prendre cette précaution on s'expose à recevoir un colis ouvert et bouleversé et souvent les flacons brisés ou tout au moins débouchés.

En analyse bactériologique il n'y a pas de petits détails et il faut songer à tout si l'on veut arriver à un résultat satisfaisant.

Modes de transport pour les courtes distances. — L'appareil de M. Rietsch de même que la caisse de Miquel que nous avons vu être munie d'une poignée peuvent parfaitement être utilisées lorsqu'il s'agit de transporter l'eau à analyser d'un point relativement rapproché du laboratoire et il est en ce cas préférable que ce soit l'opérateur lui-même ou tout au moins un de ses aides exercé qui opère le puisage de l'eau.

Voici en ce cas comment je procède, de façon quelque peu différente suivant qu'il m'est ou non possible de faire sur place l'ensemencement de l'eau.

Si cette opération ne peut être faite qu'au laboratoire je me rends à l'endroit ou la récolte doit être opérée muni seulement des tubes-pipettes et des quelques accessoires déjà décrits.

Les tubes une fois remplis sont rapportés au laboratoire, en hiver tout simplement enveloppés dans du papier ou placés dans des cylindres de cuivre dont il va bientôt être question, et en été, dans une boîte de métal, cylindrique, dans laquelle ont été mis quelques morceaux de glace et qui est elle-même entourée d'une forte couche de feutre.

Si je pense pouvoir procéder sur place à l'ensemencement, mon matériel est un peu plus encombrant et compliqué, mais, grâce à une boîte-nécessaire que j'ai fait construire pour cet usage, tous mes récipients et instruments sont transportés avec la plus grande facilité et je peux à la rigueur me passer d'un aide, tout au moins d'un aide au courant de la technique microbiologique.

Voici en quoi consiste cette sorte de trousse spécialement affectée à l'analyse bactériologique des eaux, mais qui peut aussi rendre de signalés services dans la mise en culture d'un produit quelconque.

C'est une boîte en zinc, à peu près cubique, de 35 centimètres environ dans les trois dimensions, à doubles parois circoncrivant un espace vide de 10 centimètres de largeur, tout à fait analogue à celui des étuves à incubation et destiné à recevoir des fragments de glace concassée ; un robinet placé à la partie inférieure d'une des faces de la boîte permet de vider l'eau de fusion ; l'extérieur est recouvert de feutre. Dans le grand espace vide central s'engage un panier en fils de laiton pouvant être complètement enlevé comme celui de l'autoclave et

divisé par des cloisons transversales, également en laiton, en 6 étages superposés.

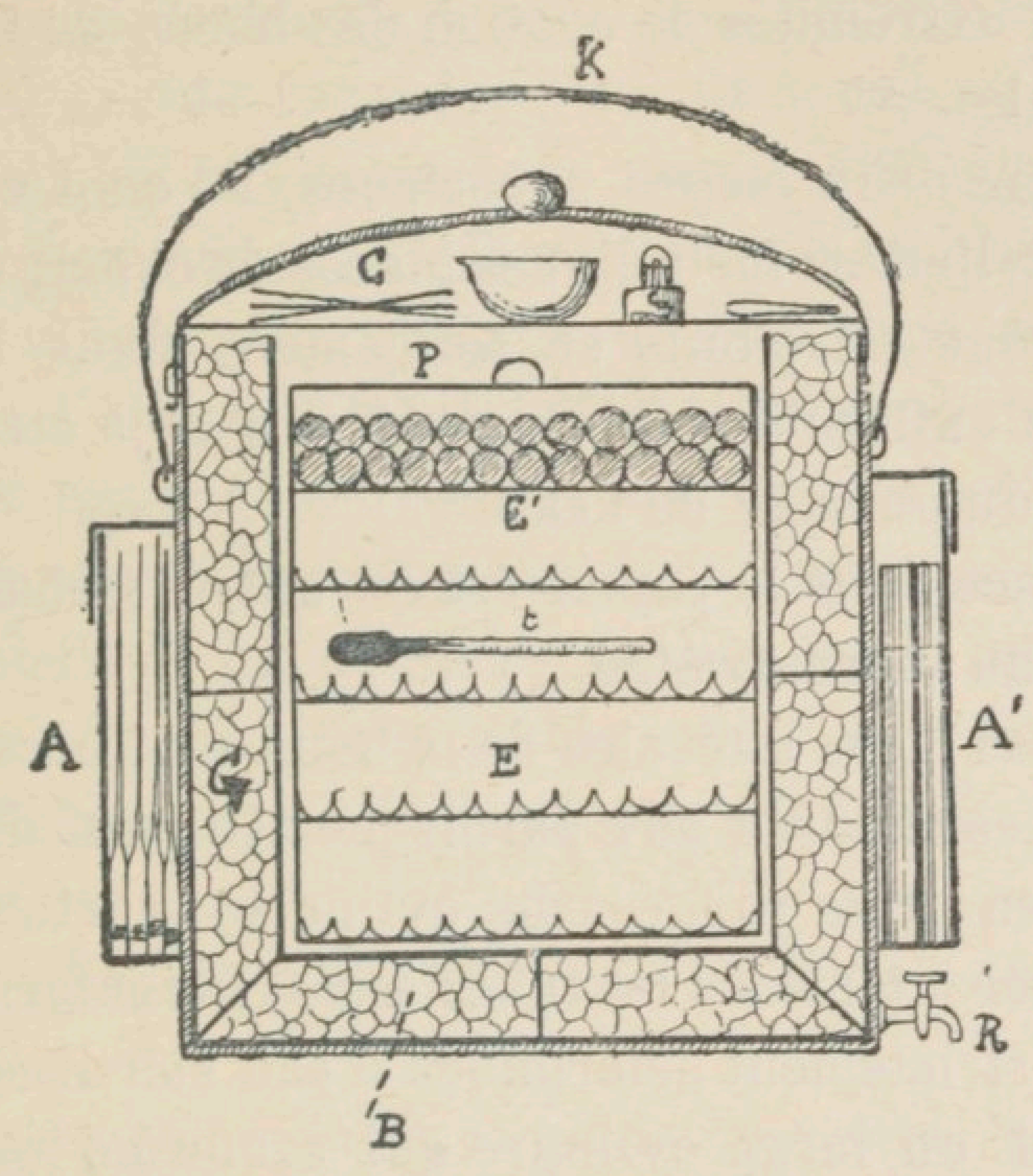


Fig. 20. — Nécessaire bactériologique du Dr G. Roux.

B. Boîte à double paroi; G. fragments de glace; R. robinet d'écoulement de l'eau de fusion; C. couvercle de la boîte renfermant divers instruments (capsule, trépied, lampe, pinces); P. panier intérieur mobile; E. supports horizontaux étagés, pour les tubes de gélatine; E'. supports cylindriques pour les tubes pipettes; *t*. thermomètre; A. cylindre annexe pour les pipettes graduées; A'. cylindre annexe pour les tubes renfermant une quantité déterminée d'eau stérilisée; K. Anse de la boîte-nécessaire.

Les quatre étages inférieurs sont agencés, grâce à une série d'encoches en forme de croissant qui limitent les deux bords libres, de façon à recevoir, couchés sur un plan horizontal, des tubes à essai contenant chacun 2 ou 3 centimètres cubes seulement de gélatine stérilisée [1],

[1] Le nécessaire étant spécialement construit en vue du procédé d'analyse sur milieux solides que j'ai l'habitude d'employer, je renvoie

lesquels sont maintenus bien en place et sans ballottement possible par des bandes de caoutchouc adaptées aux deux extrémités de chacun des bords de la cloison horizontale.

Quant au deux étages supérieurs, ils sont constitués par des cylindres métalliques placés de champ dans lesquels seront introduits et solidement fixés les tubes pipettes à extrémité effilée, dont il a déjà été question à propos du puisage de l'eau.

Une place dans le panier est en outre ménagée pour recevoir un thermomètre.

Deux des faces latérales de la boîte sont occupées par des annexes soudées aux parois métalliques, dont l'une consiste en trois rangées de cylindres verticaux dans lesquels seront placés les tubes à essais renfermant des quantités strictement déterminés d'eau stérilisée, et dont l'autre est un large cylindre qui renferme les pipettes jaugées et stérilisées qui serviront à l'ensemencement de l'eau à analyser.

Le couvercle enfin qui ferme hermétiquement la boîte, à l'exception des annexes qui ont leurs obturateurs spéciaux, est assez fortement bombé à l'extérieur et creux; dans sa cavité se trouvent : une lampe à alcool surbaissée munie d'un chalumeau et d'un petit insufflateur en caoutchouc, une petite capsule en métal, un trépied pliant, des pinces, des ciseaux, des étiquettes et quelques feuilles de papier à filtrer. Le couvercle pouvant être entièrement séparé du corps de la boîte, tous ces objets y sont facilement introduits ou en sont retirés sans

le lecteur, pour l'intelligence complète de son agencement, au paragraphe dans lequel j'expose en détail la technique de ce procédé.

peine, grâce à une porte à coulisse qui existe sur sa face inférieure, laquelle est plane.

Une anse, s'attachant par ses deux extrémités à la partie supérieure de deux des côtés de la caisse, permet de porter celle-ci à la main sans aucune difficulté.

Grâce à ce *nécessaire* il est possible au bactériologue analyste d'opérer sur place, au lieu même du puisage, la mise en culture. Pour cela la gélatine des tubes à essai est liquéfiée au bain-marie dans la petite capsule métallique, posée sur le trépied au-dessus de la lampe à alcool, et l'eau puisée dans un des tubes-pipettes est, après une dilution convenable dans l'eau stérilisée, ensemencée avec une des pipettes graduées dans la gélatine.

Je renvoie à la page 173 pour les détails de cette opération.

La glace qui entoure le panier portant les tubes de gélatine ensemencée provoque un abaissement de température suffisant pour que, même par les fortes chaleurs de l'été, cette gélatine ne se liquéfie pas à nouveau ; elle permet en outre de transporter au laboratoire, sans dangers de pullulation microbienne, l'eau qui n'aurait pas été immédiatement mise en analyse.

Dans son tout récent livre sur l'analyse bactériologique des eaux [1], Miquel a lui aussi décrit (p. 86) et figuré (fig. 17) un nécessaire spécialement agencé en vue de ce genre d'analyses. C'est une boîte (fig. 21) d'environ 38 centimètres de hauteur sur 35 centimètres de largeur et 22 centimètres de profondeur, elle comprend deux

[1] Miquel, *Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux*, Paris, Gauthiers-Villars et fils, 1891.

étages dont l'inférieur, qui a la forme d'un tiroir, comprend 15 compartiments destinés à recevoir chacun un flacon conique de 5 centimètres de diamètre à la base pour la culture sur gélatine (plaques fermées). Au-dessus du tiroir est une plaque métallique en laiton qui se

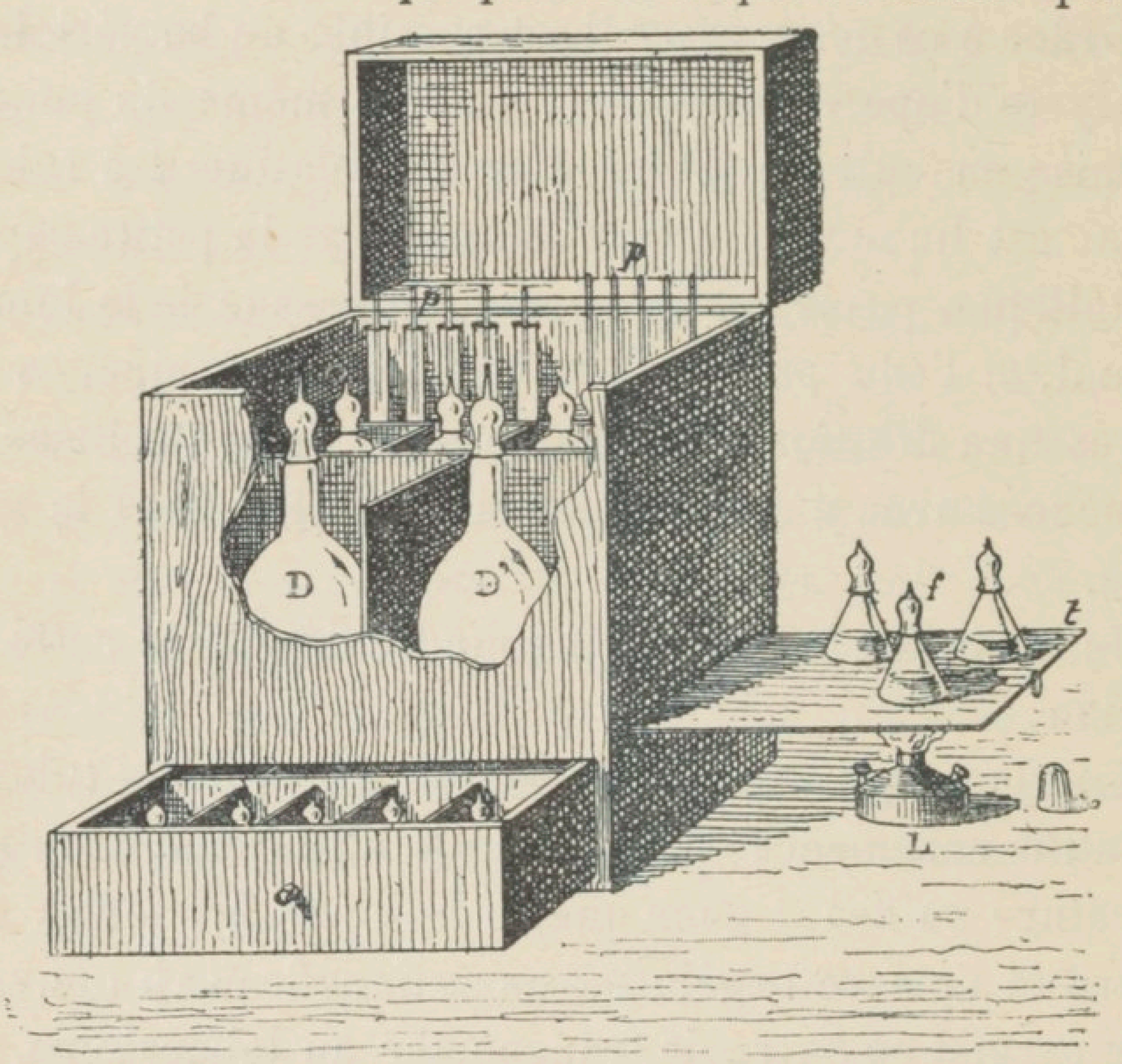


Fig. 21. — Nécessaire pour l'analyse bactériologique des eaux, construit par la maison Alvergniat.

tire à l'extérieur sur l'un des côtés de la boîte et sur laquelle seront placés les flacons renfermant la gélatine lorsqu'on voudra liquéfier cette dernière ; pour cela il suffit de placer au-dessous de la plaque une lampe à alcool qui détermine son échauffement.

L'étage supérieur qui est beaucoup plus haut est lui aussi divisé en un certain nombre de cases qui renferment : 2 vases à dilution pouvant contenir chacun 500 centimètres cubes d'eau stérilisée, 2 en contenant 50

centimètres cubes, 2 flacons de Freudenreich d'une capacité de 10 centimètres cubes, une lampe à esprit de vin et une petite bouteille remplie d'alcool.

Dans un ratelier situé contre la paroi la plus postérieure de la boîte se trouvent placés des tubes à essais qui renferment des pipettes jaugées et stérilisées et des pipettes compte-gouttes. Enfin le nécessaire contient encore quelques flacons, quelques plaques pour l'analyse qualitative et un petit vase spécial à pointe mobile effilée et à deux tubulures, sorte de pipette à boule qui sert à recueillir l'eau qu'on veut analyser sur les lieux mêmes ou à la transporter au laboratoire.

Enfin, lorsqu'il s'agit du transport à courtes distances d'échantillons d'eau dans lesquels on soupçonne l'existence de microbes pathogènes et notamment du bacille d'Eberth et qui sont destinés seulement à l'analyse qualitative, j'emploie des cylindres doubles en cuivre formés de deux tubes cylindriques soudés l'un à l'autre à la façon des deux canons d'un fusil de chasse et munis d'un couvercle bi-tubulé, mais d'une seule pièce. Dans chacun des compartiments de ce double étui est placé un tube-pipette à extrémité effilée, stérilisé et dans lequel le vide a été fait par la chaleur.

Grâce à de petits tampons de ouate dont l'un, assez épais, occupe le fond du cylindre, et dont les autres servent de cales, le tube-pipette n'a à craindre aucun choc ni aucun ballottement.

Ces étuis, ainsi munis, ont leurs dimensions et leur poids calculés de façon à pouvoir être expédiés par la poste, et, une fois l'eau puisée, réexpédiés immédiatement au laboratoire, pour qu'il soit procédé à l'analyse. A la suite d'une entente avec M. le docteur Bard, mé-

decin des épidémies du département du Rhône, ces petits appareils sont mis à la disposition de tout médecin qui en fait la demande et qui trouve, enveloppant le cylindre, une courte instruction imprimée qui lui enseigne de quelle manière il doit procéder au puisage de l'eau.

Les mêmes étuis peuvent naturellement être utilisés pour l'analyse quantitative, à condition de les placer pour le retour dans une caisse renfermant un mélange réfrigérant.

Il peut être nécessaire, une fois les échantillons d'eau rendus au laboratoire, de les conserver à une très basse température, lorsque la mise en culture ne peut pas être immédiate ; il est, d'autre part, utile, pendant les très fortes chaleurs de l'été, de placer les *substrata* à la gélatine dans un lieu très frais, voire même dans une glacière.

Dans l'un et l'autre cas, l'*étuve-glacière et à basse température*, construite par Adnet, sur les indications de Miquel, est appelée à rendre de très grands services (fig. 22).

Cet appareil[1] consiste en deux boîtes : l'une intérieure E', qui recevra les échantillons d'eau, et l'autre extérieure E, qui sert d'enveloppe à la première.

L'étuve E' a 26 centimètres de largeur sur 22 de profondeur et 20 de hauteur ; elle communique avec l'air extérieur au moyen d'un assez long couloir, muni de deux portes P' et P, cette dernière adaptée sur l'enveloppe extérieure.

[1] Miquel, *Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux*, Paris, 1891, p. 79, fig. 13.

L'étuve réfrigérante E repose sur un faux fond G, muni d'ouvertures, de façon à laisser écouler l'eau de fusion de la glace qui s'échappe par le tube T et à empêcher cette eau de fusion de se mettre en contact avec l'étuve intérieure.

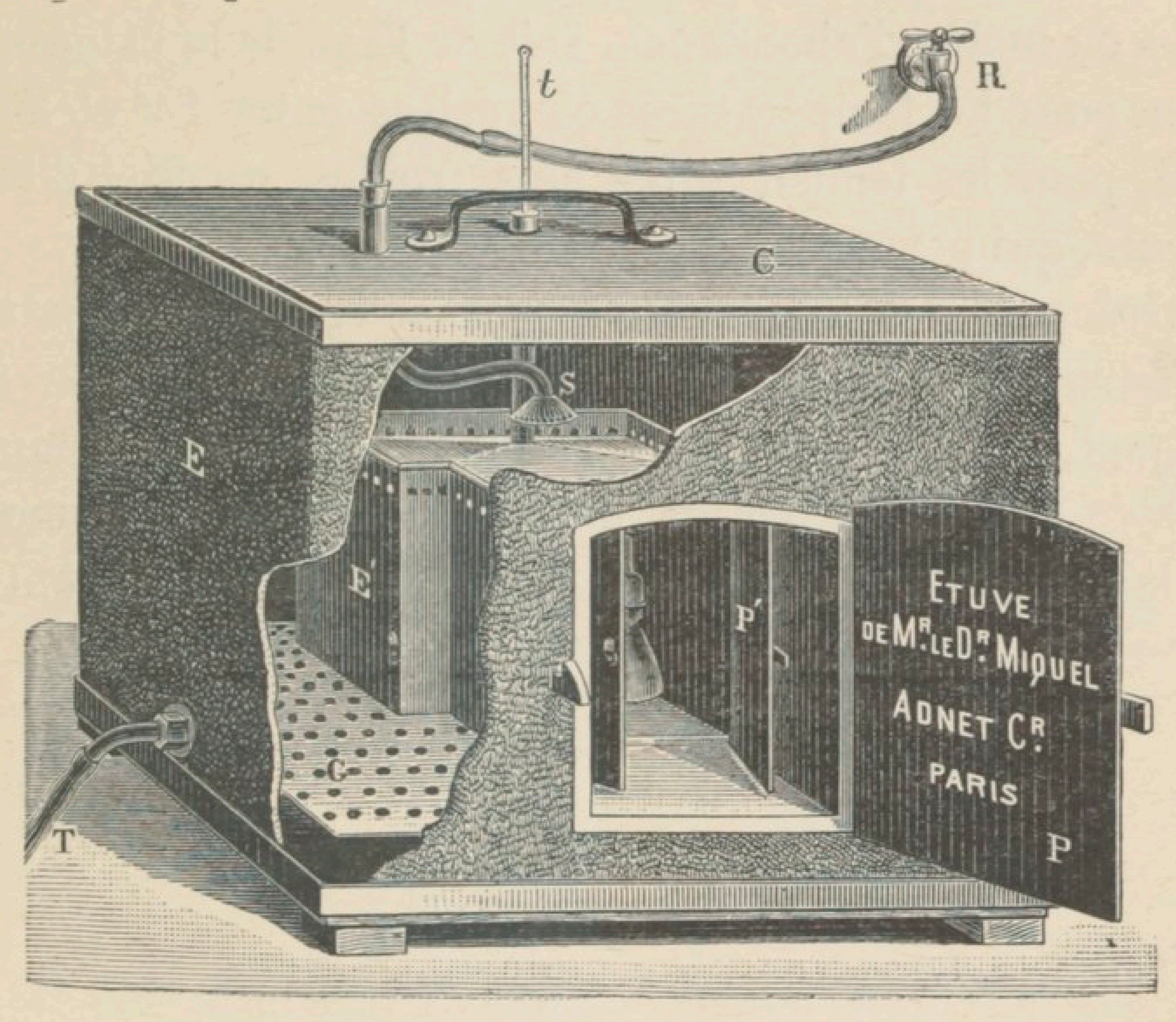


FIG. 22. — Étuve glacière et à basses températures, construite par Adnet.

La boîte E, destinée à contenir la glace, large de 50 centimètres, sur 50 de profondeur et 40 de hauteur, est recouverte d'un feutre isolant et possède un couvercle C, à double paroi, dans l'intérieur duquel on place de la sciure ou de la poudre de charbon de bois ; un thermomètre *t* traverse ce couvercle et pénètre dans l'étuve intérieure, protégé par une gaine métallique.

Lorsque l'on veut se servir de l'étuve, on la remplit de blocs de glace dont on maintient le niveau au moins

à la hauteur de la boîte intérieure E' ; le thermomètre marque alors exactement 0° centigrade.

Si l'on veut obtenir seulement des températures basses comprises entre 0° et 25°, au moyen d'un tube muni d'une pomme d'arrosoir S, on fait couler avec plus ou moins d'abondance, soit de l'eau de la canalisation, pour les températures comprises entre 14° et 20°, soit, pour les températures plus froides, un filet d'eau glacée, qui permet d'obtenir de 4° à 15°.

Grâce à des régulateurs spéciaux, qui sont aussi construits par la maison Adnet, sur les indications de Miquel, il est possible, alors que la température ambiante s'élève à 20° et au-dessus, de maintenir très exactement la température intérieure à un degré déterminé, entre 4° et 20°.

CHAPITRE VI

ANALYSE QUANTITATIVE

— SUITE —

Analyse préalable des eaux. — Méthodes d'analyse dans les milieux liquides; fractionnement dans le bouillon, de Miquel, de MM. Chauveau et Arloing, de MM. Fol et Dunant. — Méthodes d'analyse sur les milieux solides. — Plaques de Koch, procédés de M. Ch. Girard, de Miquel, plaques enroulées d'Esmarch, analyseur bactériologique de M. Arloing. — Procédés de MM. Rietsch, G. Roux ; procédés approximatifs de Miquel, papier nutritif enrégistreur.

Analyse préalable des eaux

Il est absolument indispensable, afin d'éviter des tâtonnements fâcheux, des pertes de temps, et, parfois même, l'insuccès absolu des opérations, de pratiquer une analyse préalable et sommaire des eaux dont on ne connaît pas à l'avance, approximativement, bien entendu, la richesse microbienne.

Cette analyse préalable a pour but de déterminer exactement quel est le titre de la dilution que l'on doit faire subir à l'eau examinée ; aussi est-elle nécessaire, quelle que soit la méthode d'analyse définitive, dans les liquides ou sur les solides, que l'on ait adoptée.

Il va de soi que cette opération doit pouvoir donner des résultats très hâtifs, parce que, tandis qu'elle est

exécutée, l'échantillon d'eau reste en souffrance et risquerait, si certaines précautions n'étaient point prises et si un trop long temps s'écoulait, de voir sa teneur en microbes s'élever ou s'abaisser dans des proportions qu'il est impossible de prévoir.

Pour obvier à cet inconvénient, pendant toute la durée de l'essai préalable, cet échantillon doit être maintenu constamment vers 0° dans un appareil réfrigérant à glace fondante, tel que celui représenté fig. 22, afin d'immobiliser les espèces bactériennes.

Quant à l'analyse préalable elle-même, voici comment Miquel conseille[1] d'y procéder : L'eau est distribuée sous le volume d'une goutte dans 4 à 5 conserves, puis diluée à 1/100 et ensemencée dans une dizaine de conserves toujours à la dose d'une goutte ; on fait encore une deuxième dilution à 1/1000 et une troisième à 1/1.000.000, si l'on a des raisons pour croire l'eau fort impure. Les conserves ensemencées sont alors placées à l'étuve vers 30°-35° ; au bout de vingt-quatre heures, leur examen montre entre quelles limites doit être effectuée la dilution. Si le bouillon ensemencé à 1/100 de goutte est altéré et si celui ensemencé à 1/1000 de goutte ne l'est pas ou ne l'est que partiellement, les dilutions de l'eau seront faites à 1/1000 ou au-dessus, en se rappelant qu'*au bout de vingt-quatre heures*, le chiffre des bactéries visiblement écloses atteint à peine *le quart* de celles qui se développeront plus tard sous l'influence d'une incubation prolongée pendant quinze jours.

Ce procédé présente quelques inconvénients.

[1] Miquel, *Annuaire de l'observatoire de Montsouris*, 1889, p. 394 ; 1890, p. 394.

Il peut arriver, d'abord, étant donné le petit nombre de conserves employées et, par conséquent, le petit nombre de gouttes ensemencées, qu'une mauvaise chance fasse que ces gouttes ou tout au moins quelques-unes d'entre elles ne renferment pas de germes vivants, alors cependant que leurs voisines en contiennent toutes ou à peu près toutes ; le contraire peut se produire, et dans les deux cas, le résultat sera singulièrement trompeur.

Si, d'autre part, la dilution à 1/1000 reste absolument stérile, tandis que celle à 1/100 est fertile, on ne saura pas à quels chiffres intermédiaires il faudra s'arrêter, et, en pratiquant l'analyse définitive avec la solution à 1/1000, on risquera fort de ne rien obtenir du tout.

On opère en somme ici sur des volumes trop petits.

Je pratique, pour ma part, les essais préalables de la façon suivante, qui m'a toujours donné de très bons résultats :

Je fais, suivant la nature même de l'eau à analyser, des dilutions variant de 1/4 à 1/10.000 ou même plus, ordinairement de 1/10 à 1/1000, et j'ensemence 1 centimètre cube de chacune de ces dilutions dans deux ou trois tubes de gélatine liquéfiée que j'étale ensuite sur une des parois du tube, comme il sera dit bientôt, en une mince couche qui se solidifie rapidement. Tous mes tubes sont placés à l'étuve à 20°, sur un plan parfaitement horizontal.

Au bout de trois ou quatre jours, un simple coup d'œil jeté sur les cultures suffit pour indiquer à quelle dilution on doit s'arrêter, et, souvent même, il est dès lors possible de faire une numération assez approximative des colonies.

Cette méthode, et c'est là son principal inconvénient, exige la conservation, à la glacière, pendant un assez

long temps, de l'échantillon d'eau destiné à l'analyse définitive, mais l'on sait que la plupart des microorganismes résistent assez bien aux basses températures, à la condition de ne pas arriver jusqu'à la congélation et surtout de ne pas provoquer des alternatives de gel et de dégel[1]. Aussi faudra-t-il surveiller attentivement à ce point de vue l'eau conservée.

Il est, du reste, préférable, lorsque cela est possible, et c'est toujours ainsi que je procède, à moins d'empêchement absolu, de faire l'analyse préalable avec un premier échantillon et l'analyse définitive avec un second fraîchement puisé, au même endroit ; malgré les écarts parfois assez sensibles qui s'observent dans des eaux de même provenance, recueillies à quelques jours d'intervalle, les résultats approximatifs que l'on cherche à obtenir ici sont toujours suffisants, à moins toutefois que dans l'intervalle des deux prises une crûe soit survenue, s'il s'agit, par exemple, d'une rivière, auquel cas le procédé de Miquel pourra être utilisé avec profit.

Afin d'aller plus vite, mais le procédé est ici par trop approximatif, on peut se contenter d'ensemencer, dans un flacon d'Erlenmeyer à large base, une goutte de l'eau non diluée représentant 1/50 de centimètre cube dans de la gélatine étalée, après mélange, en plaque fermée et mise à l'étuve à 20°. Après quarante-huit heures d'incubation, la rareté ou l'abondance des colonies en voie de développement pourront donner des indications quelque peu sommaires sur la richesse microbienne de l'eau et, par conséquent, sur le degré de dilution que l'on devra lui faire subir.

1 Prudden, On bacteries in ice and their relation to diseases *(New-York. méd. Record*, n[os] 13 et 14, 1887).

Les méthodes d'analyse microbiologique des eaux, basées sur la culture des bactéries sur des milieux nutritifs appropriés, peuvent être divisés en deux grandes catégories :

I. MÉTHODES DE CULTURE DANS LES LIQUIDES.

II. MÉTHODES DE CULTURE SUR LES SOLIDES.

Nous passerons en revue successivement chacun de ces groupes et dans chacun d'eux nous étudierons avec quelque détail les procédés les meilleurs ou les plus utilisés.

I. MÉTHODES DE CULTURE DANS LES LIQUIDES

1° MÉTHODE DE FRACTIONNEMENT DANS LE BOUILLON. — A. *Procédé de Miquel.* — Dès 1879, Miquel a préconisé en France une méthode d'analyse bactériologique des eaux dans les milieux nutritifs liquides, à laquelle il a donné avec raison le nom de *méthode du fractionnement dans le bouillon*.

Cette méthode est essentiellement basée sur ce fait que l'ensemble des bactéries renfermées dans un volume déterminé d'eau, 1 centimètre cube par exemple, peut être disséminé, dissocié et réparti de telle sorte dans une quantité plus ou moins considérable d'un liquide aseptique et inerte comme de l'eau stérilisée, que chaque goutte de ce mélange représentant 1/25 de centimètre cube ne renferme que 0 ou 1 germe microbien, et que 1/5 ou 1/4 des gouttes ainsi ensemencées restent absolument stériles, c'est-à-dire sont dépourvues de tout microbe.

Le matériel spécial nécessaire pour une analyse faite dans ces conditions consiste en pipettes jaugées très

exactement, ballons à dilution renfermant l'eau stérilisée, et enfin les petits flacons ou conserves renfermant le bouillon qui devra être ensemencé. Pour le reste, appareils de stérilisation, étuves à incubation, etc., il en a déjà été question au chapitre consacré au matériel du laboratoire.

Miquel qui a eu l'occasion d'essayer les bouillons de culture les plus variés, propose la formule suivante :

Peptone Chapoteaut.	20 grammes.
Sel marin.	5 — »
Cendres de bois.	0,10 centig.
Eau ordinaire.	1000 grammes.

et émet le *desideratum* que tous les bactériologues adoptent la même formule, afin de rendre aussi comparables que possible les résultats de leurs analyses.

Pour ma part, je me suis toujours servi du bouillon de Loffler qui m'a paru posséder des propriétés éminemment nutritives et qui se fabrique ainsi :

Bouillon de Loffler *(Fleisch infuss-pepton)*. 500 grammes de viande de bœuf d'excellente qualité, hachée et dégraissée, sont mis à macérer à basse température, pendant vingt-quatre heures, dans un litre d'eau ordinaire. On exprime alors dans un linge, puis à la presse; on ajoute de l'eau au liquide sanguinolent ainsi obtenu, de façon à le ramener au volume d'un litre; puis on chauffe jusqu'à ébullition et on y dissout 10 grammes de peptone sèche et 5 grammes de sel marin. On neutralise alors avec une solution saturée de bicarbonate de soude, que l'on ajoute goutte à goutte jusqu'à réaction légèrement alcaline. On stérilise à l'autoclave et on filtre à plusieurs reprises jusqu'à ce que le liquide passe parfaitement clair. Ce décocté de viande dont on se sert

au laboratoire de Koch et dont la formule est donnée par Macé[1] dans son *Traité de bactériologie*, est le milieu nutritif liquide que j'utilise le plus fréquemment et qui m'a toujours donné d'excellents résultats.

Dans un grand nombre de ses volumes, l'*Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* rappelle les principes de la méthode de fractionnement, et c'est à son dernier volume paru, celui de 1890, que j'emprunte presque textuellement sa description.

L'eau diluée au titre voulu est distribuée dans 36 conserves de bouillon de bœuf neutralisé, savoir : à la dose de 1 goutte dans 18 conserves, et à la dose de 2 gouttes dans 18 autres conserves.

Une expérience identique et de contrôle est pratiquée immédiatement avec de l'eau diluée au même titre, ou mieux à un titre deux fois plus élevé ; puis les 72 conserves de bouillon sont placées à l'étuve, à 30°-35°, pendant une période de temps minimum de quinze jours, et l'on procède au bout de ce temps à la numération des bactéries, en ayant soin de ne faire entrer en ligne de compte dans les calculs que les séries de conserves qui présentent moins de 20 à 30 pour 100 de cas d'altération, moins de 21 sur 72. On prend alors la moyenne des résultats fournis par la première et la seconde expérience, qui 40 fois sur 100 sont identiques.

L'analyse des eaux par la méthode du fractionnement comporte deux opérations : la dilution et la distribution de l'eau diluée.

Pour diluer les eaux, on se sert de matras d'une capacité variant de 30 centimètres cubes à 2 litres, bou-

[1] Macé. *Traité pratique de Bactériologie*, 2e édit., 1re partie p. 138. Paris, 1891, J. B. Baillère, éditeur.

chés avec un capuchon de verre tubulaire à cheminée garnie de coton, analogue à celui des ballons Pasteur, à fond plat, très stables. Ces matras sont à demi remplis d'un volume connu d'eau distillée et stérilisés à l'autoclave.

L'eau à analyser doit toujours être vivement agitée avant la dilution, puis prélevée avec des pipettes jaugées et flambées, et cela en plusieurs fois, par quart de

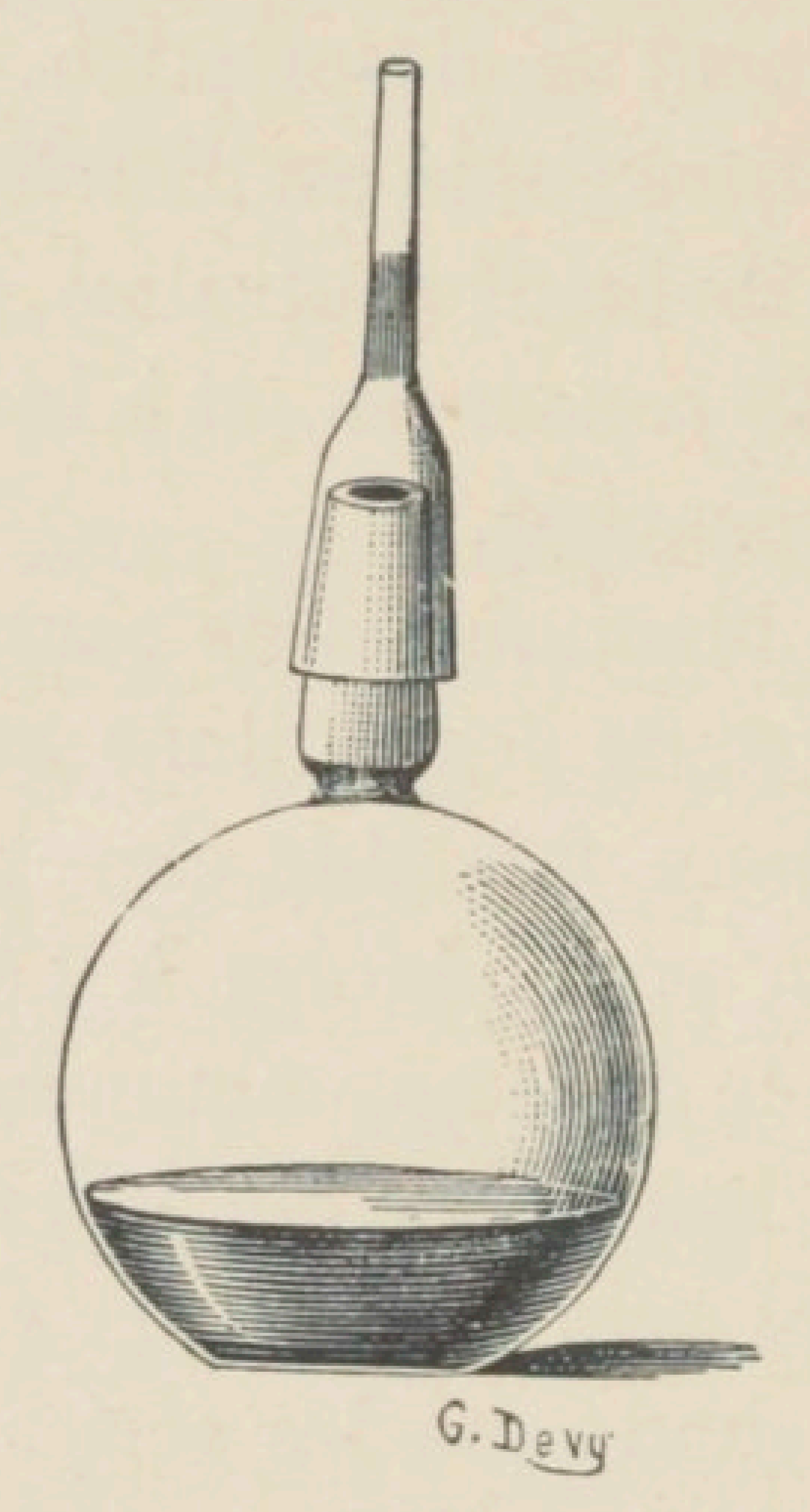


Fig. 23. — Matras Pasteur.

centimètre cube par exemple pour 1 gramme d'eau, de façon à obtenir ainsi un échantillon moyen, résultant de quatre prises effectuées à divers points de la masse liquide.

Aux pipettes graduées ou jaugées au trait, Miquel préfère pour cet usage des pipettes simplement unies dont l'ouverture capillaire débite à peu près 25 gouttes au gramme ; elles peuvent être fabriquées par n'importe qui et seront bonnes à condition que l'on ait soin de

rejeter toutes celles qui donneraient moins de 240 et plus de 260 gouttes d'eau distillée pour 10 grammes; elles sont, bien entendu, munies d'une bourre de ouate, stérilisées au four Pasteur et conservées dans des tubes à essais stérilisés aussi et bouchés à la ouate (fig. 24); elles doivent être flambées au moment de l'usage.

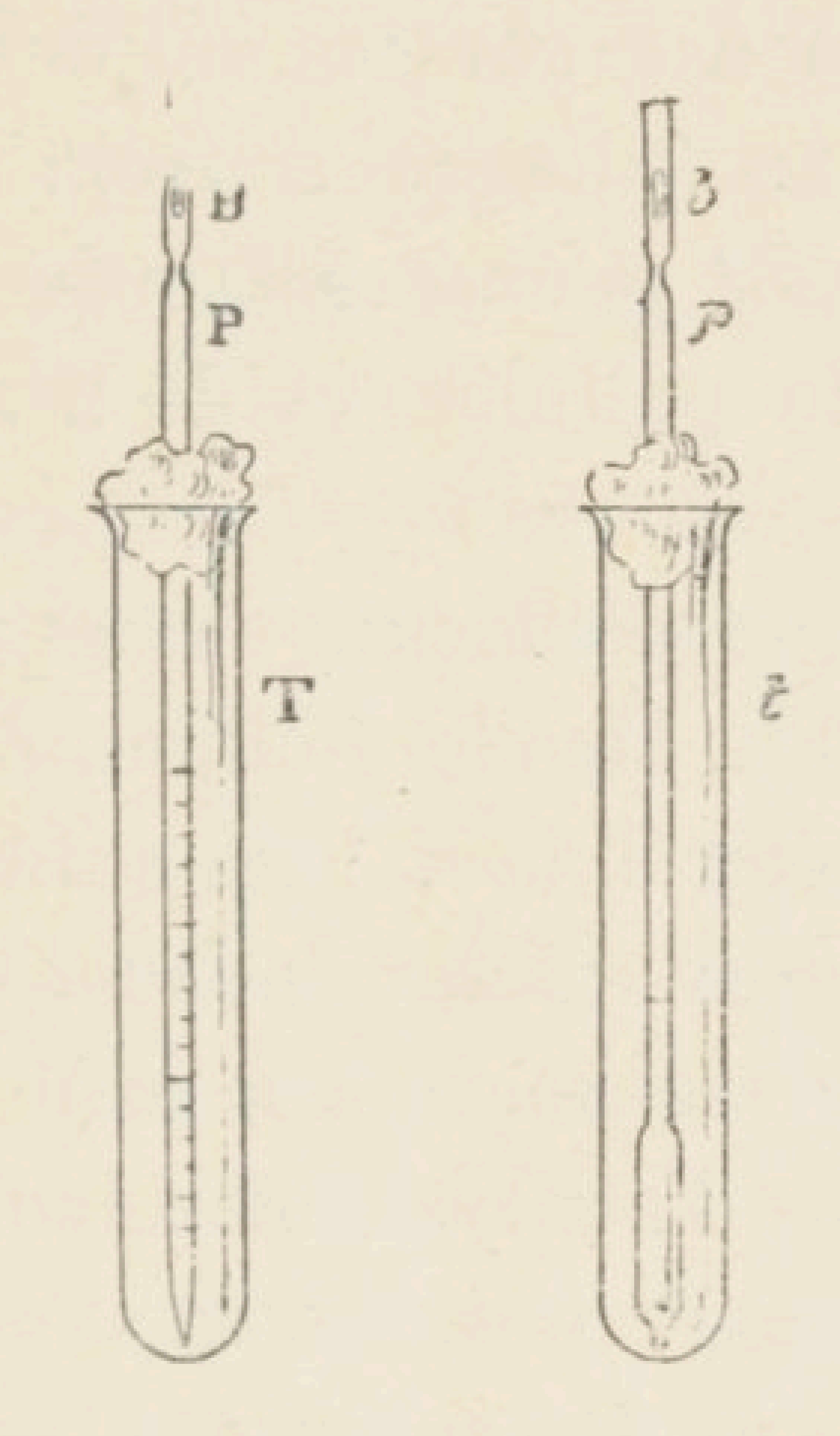


Fig. 24. — Pipettes jaugées et stérilisées.

Comme conserves Miquel emploie les petits flacons de 15 centimètres cubes de M. de Freudenreich, qui ne sont autre chose que des ballons Pasteur cylindriques, à moitié pleins de bouillon de bœuf stérilisé et disposés au nombre de 36 dans deux boîtes cloisonnées.

Un aide prend alors successivement chaque flacon, le flambe et l'ouvre : l'expérimentateur laisse tomber, suivant les cas, 1, 2 ou 3 gouttes, l'aide le referme et le remet en place, ainsi de suite jusqu'à la fin de la distribution qui doit être pratiquée en renouvelant trois ou quatre fois l'eau de la pipette.

Le fractionnement de l'eau, dit Miquel, dans 72 conserves demande environ 15 minutes, les dilutions 5 minutes, de sorte qu'en 20 minutes on peut pratiquer une analyse d'eau par le procédé qui vient d'être décrit.

Le principe fondamental de cette manière d'opérer consiste, nous l'avons vu, dans ce fait théoriquement vrai que chacune des gouttes ou des doubles gouttes ensemencées dans chaque conserve de bouillon ne contient qu'un *seul germe microbien* susceptible de se développer, de pulluler et de troubler *la liqueur nutritive*.

Il est évident que si chacune de ces gouttes renferme, comme l'a prétendu Meade-Bolton, deux ou plusieurs individualités bactériennes, l'exactitude de la méthode disparaît et les résultats deviendront des plus douteux.

Dans le chapitre consacré à la critique sommaire des différents procédés d'analyse microbiologique des eaux, je reviendrai sur cette question et je chercherai à expliquer les divergences des auteurs, divergences qui tiennent plus, je le crois, aux manipulateurs qu'aux manipulations elles-mêmes.

Quoi qu'il en soit, Miquel obtient avec son *modus faciendi* des résultats excellents, et on ne peut mettre en doute les affirmations d'un observateur aussi consciencieux.

Ses opérations, on vient de le voir, sont très simples; mais elles ont un désagrément assez sérieux, celui d'exiger un nombre considérable de ballons et une étuve de dimensions très vastes.

Supposons que nous ayons scrupuleusement suivi les prescriptions ci-dessus énoncées et voyons comment, en constatant que tant de ballons se sont troublés à

l'étuve en quinze jours, nous pourrons en déduire le nombre de bactéries contenu dans 1 centimètre cube, puis dans un litre de l'eau en analyse.

Nous supposerons, bien entendu, le cas le plus ordinaire, celui dans lequel 54 gouttes d'eau ont été ensemencées dans 36 conserves de bouillon (il ne s'agit ici, cela va de soi, que d'une des deux analyses contradictoires qui ont été effectuées pour le même échantillon), nous supposerons en outre que la dilution que l'on a employée était à 1/5000.

Nous dirons : 54 gouttes d'eau diluée à 1/5000 sont réparties dans 36 conserves, 18 en ayant reçu chacune *deux* et 18 *une seule*,

Supposons encore qu'au bout de quinze jours de séjour à l'étuve à 30-35°, 8 conserves sur 36 soient altérées ou troublées, c'est-à-dire fertilisées. Nous en concluons que 8 germes vivants de bactéries existaient dans les 54 gouttes ensemencées, ce qui revient à dire que : 54 gouttes d'eau à 1/5000 renferment 8 bactéries. Si nous nous souvenons alors que les pipettes dont se sert Miquel et dont nous nous sommes servi nous-mêmes, sont jaugées de façon à donner 25 gouttes au centimètre cube, nous pouvons établir l'égalité suivante :

$$54 \text{ gouttes} = \frac{54}{25} \text{ c.-à-d. } 2^{cc},12$$

d'où en substituant $2^{cc},12$ à 54,

$$2^{cc},12 \text{ d'eau à } \frac{1}{5000} = 8 \text{ bactéries}$$

le signe = signifie ici : renferme. Si nous voulons savoir maintenant combien 1 centimètre cube de l'eau en analyse renferme de microbes, nous n'aurons plus qu'à faire les très simples calculs suivants ;

$$1^{cc.} \text{ d'eau à } \frac{1}{5000} = \frac{8}{2,12} \text{ c.-à-d. } 3,7$$

d'où 1 centimètre cube de l'eau initiale non diluée $= 3,7 \times 5000 = 18.500$.

Nous savons donc que :

1 centimètre cube de notre eau renferme 18.500 bactéries.

Pour connaître la richesse microbienne par litre, il suffit alors de multiplier par 1000 le nombre précédent et nous avons 18.500.000.

Il est maintenant facile de représenter les quelques calculs précédents par une série de formules générales qui permettront d'arriver très rapidement, dans n'importe quel cas, au résultat cherché. Pour cela faire, il faut d'abord compter le nombre de conserves altérées et voir à combien de gouttes elles correspondent ; ce nombre de gouttes est alors divisé par 25 (jauge de la pipette) ; on divise ensuite le nombre de conserves fertilisées par le quotient obtenu précédemment et le nouveau quotient obtenu multiplié par le titre de la dilution choisie donne la teneur en microorganismes de 1 centimètre cube de l'eau en analyse.

Si donc, nous appelons G le nombre de gouttes ensemencées, N celui des conserves altérées, Q le premier quotient $\left(\text{de } \frac{G}{25}\right)$, K le second quotient $\left(\text{de } \frac{N}{Q}\right)$, et T le titre de la dilution, nous obtenons la série de formules générales suivantes :

(1) $\frac{G}{25} = Q$ (2) $\frac{N}{Q} = K$ (3) $K \times T = X$ bactéries par $1^{cc.}$

enfin (4) X bactéries par $1^{cc.} \times 1000 =$ richesse microbienne au litre.

B. *Procédé de MM. Chauveau et Arloing.* — MM. les professeurs Chauveau et Arloing emploient depuis longtemps une méthode qui leur appartient en propre et qui a de nombreux points de ressemblance avec celle de Miquel.

Comme ce dernier, ils admettent théoriquement que chacune de leurs gouttes ne renferme qu'un seul germe bactérien, et, comme lui, ils distribuent un certain nombre de gouttes dans un nombre déterminé de conserves, mais ce qui constitue l'originalité de leur procédé, c'est l'extrême petitesse de la goutte ensemencée, laquelle est destinée, dans la plupart des cas, à remplacer la dilution préalable de Miquel.

Voici de quelle façon il est encore, aujourd'hui, procédé dans le laboratoire de médecine expérimentale de M. le professeur Arloing, à la Faculté de médecine de Lyon [1] :

La pipette qui servira à la répartition des gouttes dans les ballons est, pour éviter toute chance de contamination extérieure, celle même dans laquelle sera aspirée l'eau à analyser.

Cette pipette qui ne diffère guère, comme forme générale, de celles dont on se sert journellement dans les laboratoires de Microbie pour les ensemencements, est fabriquée en deux temps : on établit d'abord à l'une de ses extrémités, au chalumeau à gaz, une effilure ordinaire et très longue, afin que son calibre soit sensiblement égal en n'importe quel point et exactement située dans l'axe du tube de verre ; puis au moyen de la lampe à

1 Je dois ces renseignements à mon ami le docteur Courmont, préparateur de M. le professeur Arloing, qui emploie souvent le procédé décrit ici et en obtient de bons résultats.

alcool, afin que la chaleur ne soit pas trop intense, on pratique sur la portion déjà rétrécie et aussi régulièrement que possible, une seconde effilure extrêmement fine, de façon à ce quelle ne laisse échapper que des gouttes d'une ténuité excessive ne représentant guère chacune que 1/120 ou 1/150 de centimètre cube et souvent moins encore.

MM. Chauveau et Arloing ont constaté que des gouttes qui tombent d'une pointe effilée de la sorte, sont d'un *poids sensiblement égal*.

Après avoir enfoncé un tampon de ouate, un étranglement assez prononcé est ensuite pratiqué au chalumeau au-dessus du coton et un peu au-dessous de l'extrémité libre de la pipette, et celle-ci est très exactement jaugée, c'est-à-dire que l'on détermine expérimentalement combien de gouttes sa pointe très finement effilée laisse s'échapper au centimètre cube.

Ceci fait, la pointe est scellée à la lampe et le petit appareil est mis en communication avec une pompe à mercure destinée à y opérer un vide aussi parfait que possible ; celui-ci obtenu, le dard du chalumeau lancé sur la portion rétrécie permet d'obturer hermétiquement la pipette qui sera alors, après flambage au four Pasteur, transportée avec précaution là où devra être opéré le puisage. Pour procéder à celui-ci, la pipette préalablement flambée à la surface est enfoncée dans l'eau et la pointe brisée ; malgré la capillarité de l'ouverture et en raison du vide fait d'avance, le liquide monte et remplit bientôt la portion élargie du tube ; il faut avoir soin, une fois que l'on a recueilli une quantité suffisante d'eau et avant de retirer la pipette, de briser l'autre extrémité scellée afin que l'air atmosphérique qui, par suite

des différences de pression, aurait tendance à être aspiré, ne puisse rentrer qu'après avoir traversé le tampon de ouate stérilisée.

Le transport au laboratoire se fait avec les précautions d'usage, plus minutieuses ici encore, à raison de la fragilité de l'effilure, et dans la glace. Au moment de pratiquer l'ensemencement, un tube de caoutchouc est appliqué à l'extrémité libre, de façon à pouvoir permettre une légère insufflation dans le cas où la goutte ne se formerait pas, et 1 centimètre cube d'eau est ainsi réparti goutte à goutte dans 120 ou 150 matras de bouillon nutritif, la pipette étant, pour plus de sûreté, fixée, très légèrement inclinée, dans la pince d'un support.

Les conserves sont alors mises à l'étuve à 35° et la numération de celles d'entre elles qui se sont troublées se fait, comme dans le procédé de Miquel, au bout de quinze jours. Le calcul, ici, si on a ensemencé 1 centimètre cube juste, est extrêmement simplifié puisqu'il n'existe pour ainsi dire pas. Supposons, en effet, que 150 gouttes représentant très exactement 1 centimètre cube aient été réparties dans 150 ballons, et qu'au bout de quinze jours 50 de ces derniers soient troublés, nous en concluerons que 1 centimètre cube de l'eau analysée renferme 50 germes bactériens.

Si une partie seulement du centimètre cube représenté par 150 gouttes a été ensemencée, ce qui est l'ordinaire, 100 gouttes par exemple, c'est-à-dire les 2/3, et que 25 ballons aient été fertilisés, une simple proportion permettra d'interpréter le résultat :

$$\frac{X}{150} = \frac{25}{100}$$

ou $X \times 100 = 25 \times 150$;

or $25 \times 150 = 3750$;

donc $X \times 100 = 3750$,

d'où $X = \frac{3750}{100} = 37,50.$

1 centimètre cube de l'eau en analyse renferme donc 37,50 bactéries.

Il y aura donc, dans un cas analogue, 37 bactéries 1/2 par centimètre cube.

Dans ce procédé, on a, en raison de l'extrême petitesse des gouttes ensemencées, moins de chances que dans celui de Miquel de laisser tomber, à la fois, dans la même conserve, plusieurs germes microbiens, mais l'extrême fragilité de la pipette qui sert en même temps au puisage et à l'ensemencement, le nombre très grand de ballons nécessités par chaque analyse, sont des obstacles sérieux à sa généralisation dans les laboratoires. Il est vrai que l'on pourrait très bien n'utiliser la pipette que pour la mise en culture, l'eau ayant été, au préalable, puisée dans un récipient quelconque moins fragile.

C. *Procédé de MM. H. Fol et Dunant.* — M. Hermann Fol, ayant été chargé, par la municipalité genévoise, de faire, en collaboration avec M. le professeur P. L. Dunant, une série d'expériences microbiologiques sur la salubrité des eaux potables de Genève, après avoir examiné et essayé les différentes méthodes connues à cette époque, fut amené à y introduire des modifications qu'il considère comme étant des perfectionnements et des simplifications extrêmement importantes [1].

[1] H. Fol, Nouvelle méthode pour le transvasage de bouillons sté-

M. Fol adopte tout d'abord le principe des cultures lans les milieux liquides, et notamment dans le bouillon le bœuf, de Pasteur et Miquel; mais se préoccupant, de façon peut-être exagérée, des chances de contamination qui sont liées au transvasage des bouillons stérilisés, l invente tout un dispositif, certes, très ingénieux, nais qui nous semble aujourd'hui, avec les appareils perfectionnés que nous possédons, tout à fait inutile; aussi n'y insisterai-je pas.

Quant au procédé spécial d'analyse préconisé par Fol, l est essentiellement basé, comme celui de Miquel, sur e principe de la dilution de l'eau à analyser; mais ici, a dilution, au lieu d'être opérée dans de l'eau stérilisée, est faite d'emblée dans le bouillon nutritif qui, lui, à son our, sera réparti dans une série de petits ballons. Voici, au reste, rapportée presque *in extenso* la communication du savant genévois :

Le tube-pipette qui sert au puisage de l'eau a la forme d'une baïonnette ou plutôt d'un villebrequin dont a grosse extrémité, ouverte, est munie de deux bourres l'amiante, et dont l'autre extrémité, assez longuement effilée, est fermée à la lampe. Ce petit appareil (fig. 25) est stérilisé à une température voisine du rouge sombre. Pour l'usage et au moment de puiser l'eau, on adapte, à la partie supérieure du tube, un tuyau de caoutchouc lequel permettra l'aspiration du liquide. Au moment même de procéder au puisage, on flambe la partie effilée ainsi que la pince qui servira à la briser, et l'eau est

ilisés et le dosage des germes vivants contenus dans l'eau (*Arch. les sciences physiques et naturelles de Genève*, 1884, 3e période, . XI, p. 557, et suiv. pl. V).

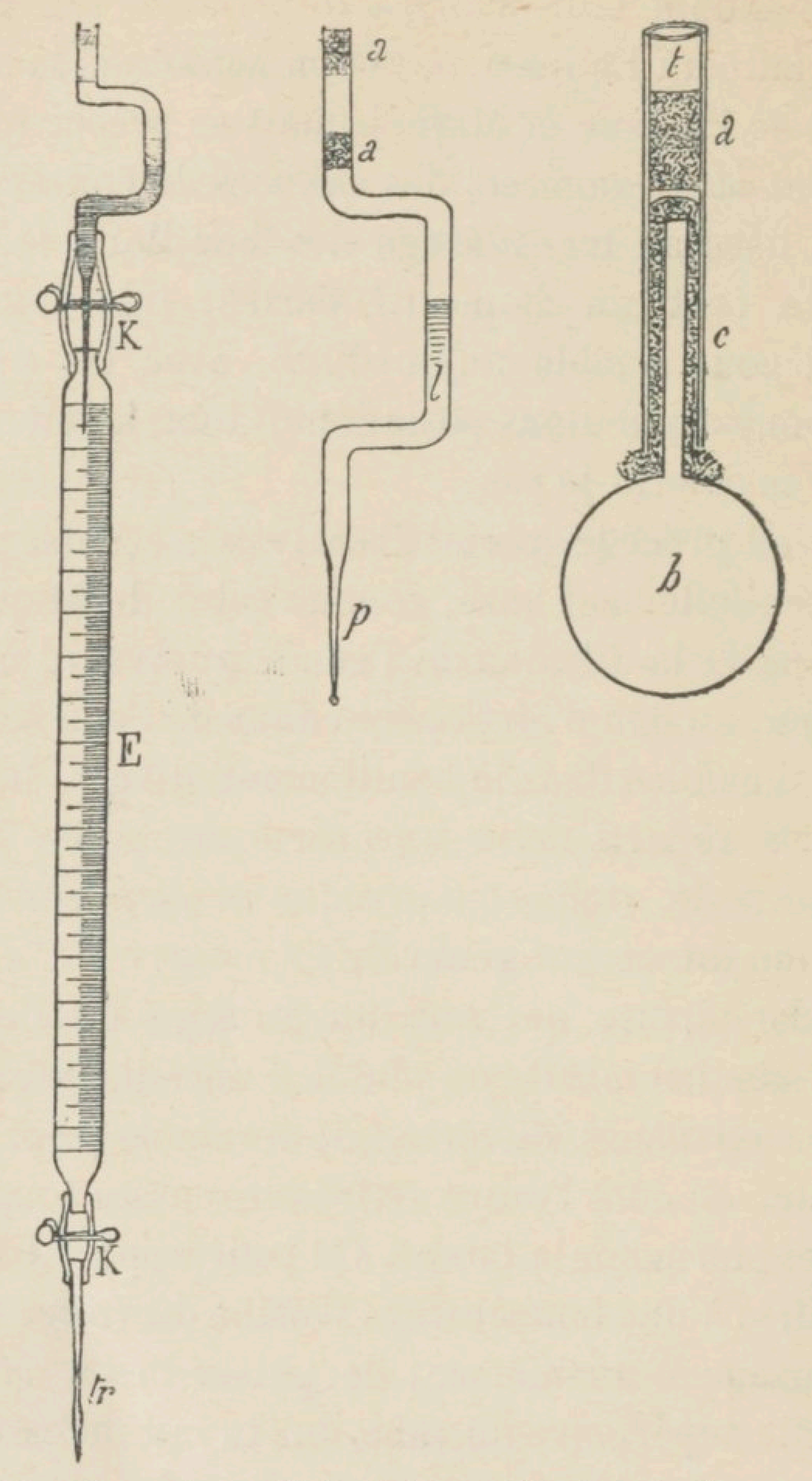


Fig. 25. — Appareils de Fol, pour l'analyse de l'eau.

a. a. p tube pipette, en baionnette, pour le puisage de l'eau; *a. a.* bourres d'amiante; *p.* extrémité inférieure effilée; *l.* eau aspirée dans la pipette; E. burette en verre graduée de 100 centimètres cubes de capacité; K. extrémité supérieure fermée par un tube de caoutchouc et une pince de Mohr, et recevant l'extrémité effilée du tube pipette; K'. extrémité inférieure agencée de la même façon et portant le trocart *(tr)* destinés à perforer les bourres d'amiante ou de ouate; *b.* ampoule de verre, de 10 centimètres cubes de capacité à col étroit; *t.* tube extérieur servant à maintenir par dessus le col du ballon *(b)*, une couche de ouate *(c)*; *a.* bourre d'amiante.

irectement aspirée par le tube de caoutchouc appliqué
la bouche.

Si le puisage doit être opéré dans la profondeur du
ıc au lieu de l'être à la surface, le tube-pipette pré-
édent sert encore, mais avec quelques modifications;
s deux extrémités en sont scellées au moment où le
ıbe entier est porté à une température voisine du rouge
ombre, puis le tube est fixé à une tige de métal que l'on
ambe avant l'usage et qui est munie d'une branche
ıobile à équerre, mise en mouvement à distance par
n fil de fer. L'appareil étant plongé à la profondeur
oulue, une traction opérée sur le fil de fer amène la
ıpture de la pointe, et la branche mobile, continuant
on chemin, permet à l'eau de pénétrer dans l'espace
ıtérieur, en partie vide, sans risquer de la contaminer.

Le remplissage, dans l'un ou l'autre cas (puisage su-
erficiel ou profond), ne doit jamais être que partiel, de
ıçon à ce que les bourres ne puissent pas être mouil-
ées, et l'extrémité effilée est de nouveau scellée à la
ampe. La mise en culture, ici comme ailleurs, doit tou-
ours suivre du plus près possible l'époque du puisage.

Pour effectuer cette mise en culture, Fol emploie des
urettes de verre légèrement amincies aux deux extré-
ıités, pour l'adaptation de tubes de caoutchouc et d'une
ontenance de 100 centimètres cubes, avec une divi-
ion qui va jusqu'au dixième de centimètre cube, dis-
osée de telle sorte que le n° 100 corresponde exactement
l'orifice inférieur et que le 0 soit à une petite distance
e l'extrémité supérieure. Les burettes sont, bien
ntendu, strictement stérilisées avant l'usage. Lors-
u'elles sont ainsi préparées, on les fixe à un support
ertical, on remplace la baguette de verre plein qui ob-

turait le caoutchouc de l'extrémité inférieure par une canule-trocart de verre flambée, et la baguette de verre supérieure par un tube de verre muni d'une bourre d'amiante stérilisée.

Les choses étant ainsi disposées, on passe le trocart à travers le tampon d'amiante d'un ballon de provision que l'on sait être absolument aseptique, grâce à un séjour antérieur à l'étuve d'incubation. Ouvrant alors la pince inférieure, on voit le bouillon se précipiter dans la burette, grâce au vide produit par la condensation de la vapeur d'eau qui a servi à stériliser la burette. Lorsque les bulles d'air qui se sont dégagées sont redissoutes, on ouvre les deux pinces et on laisse descendre le bouillon jusqu'à la marque voulue (généralement à 2 dixièmes au-dessous de 0). Pour introduire l'eau à essayer on fait alors passer la partie effilée du tube de récolte par le canal du caoutchouc supérieur, après avoir adapté à l'orifice supérieur de ce tube un capuchon de caoutchouc semblable à ceux des petites pipettes de micrographes. Il est dorénavant facile de ne laisser tomber que très juste la quantité d'eau voulue, à la condition que les bourres n'aient pas été mouillées. Après avoir refermé les caoutchoucs, on mélange consciencieusement les liquides et on répartit ensuite ce mélange dans des petits ballons spéciaux (fig. 25, *b)*, par les procédés et avec les précautions que H. Fol a décrits dans la première partie de son mémoire, On devra en particulier, ajoute l'auteur, avoir soin que le trocart qui sert à opérer la distribution ne reste jamais à l'air libre, mais soit toujours introduit dans un espace stérile, car il faut éviter de le flamber entre les remplissages, sous peine de diminuer le nombre des germes vivants de la liqueur mélangée.

Les petits ballons restent ensuite en observation pen-lant quatre semaines. La grande majorité des troubles se produit pendant les premiers jours, époque durant aquelle il faut les observer de près. A partir du quin-ième jour, les cas nouveaux de fertilisation sont une rare exception.

La numération des bactéries par centimètre cube et par litre se fait ici de la même façon que dans le pro-cédé de Miquel.

H. Fol trouve sa méthode infiniment supérieure à outes celles qui étaient connues en 1884 et il insiste surtout sur sa simplicité. Je me permettrai de n'être pas out à fait de son avis sur ce dernier point et de regar-ler comme beaucoup moins compliquée et tout aussi sûre la méthode établie par Miquel, et suivie encore, ce qui démontre sa supériorité, par bon nombre de bactériologues.

II. MÉTHODES DE CULTURE SUR LES SOLIDES

Les méthodes générales de culture des bactéries sur es milieux nutritifs solides, sinon créées du moins ré-lementées et fortement préconisées par Koch, ont cons-itué un remarquable progrès dans la technique bacté-ioscopique. Le seul mérite de ces méthodes consisterait-l dans la mise en évidence microscopique de chaque olonie microbienne nettement séparée de ses voisines ue ce mérite serait déjà grand et que nous devrions être econnaissants au savant qui nous les a fait connaître ; nais, on le sait, des caractères morphologiques de pre-nier ordre sont révélés par les cultures sur les différents ubstrata solides, et aujourd'hui, il n'est pas un seul

microbiologiste qui ne soit obligé de s'en servir et de les utiliser dans la diagnose des espèces.

Le point particulièrement intéressant et utile de ces méthodes est celui qui concerne les cultures dites *sur plaque* qui ont pour substratum une gélatine rendue nutritive par l'addition de bouillon, de peptone, de sel marin, de phosphates, de sucre, etc.

N'est-il pas en effet admirable que l'on puisse incorporer dans un milieu nourricier, maintenu liquide à une température assez basse pour ne point agir défavorablement sur les germes vivants, intimement mélanger à ce substratum de façon qu'ensuite, par sa solidification, chaque individu microbien se trouve emprisonné dans un point déterminé, où il vivra, pullulera et formera souche, les microorganismes parfois innombrables et spécifiquement différents que renferme une goutte de pus, de sang, de matières fécales, d'urine ou d'eau ?

Car c'est cette méthode générale de dissociation des germes et de culture sur la gélatine-peptone qui a tout d'abord été intégralement appliquée par Koch à l'analyse bactériologique de l'eau, et l'on se rend très bien compte lorsqu'on en connaît le *modus operandi*, qu'il n'en n'ait pas pu être autrement. Je comprends très bien que Miquel ait défendu avec une louable énergie et une grande ténacité les procédés qui lui sont propres, mais il n'a pu s'empêcher, malgré les reproches qu'il lui adresse, de décrire la nouvelle méthode et de s'en servir dans certains cas.

La manière d'opérer de Koch est en somme très simple, très élégante et rend d'incontestables services ; elle a été acceptée dès son apparition par tous les bactériologues allemands et la plupart de ceux de notre pays

Il lui a cependant été apporté quelques modifications de détails destinées à la rendre ou plus commode encore ou plus sûre.

Nous allons passer rapidement en revue après le procédé fondamental quelques-unes de ses variétés.

A. Méthode de Koch. — *Cultures sur plaques.* — Un volume parfaitement déterminé d'eau est réparti, au moyen d'une pipette graduée en dixièmes de centimètres cubes et stérilisée, dans un certain nombre de tubes à essai renfermant chacun une dizaine de centimètres cubes de gélatine nutritive liquéfiée au bain-marie à une douce température (30°-36° C.). On mélange doucement

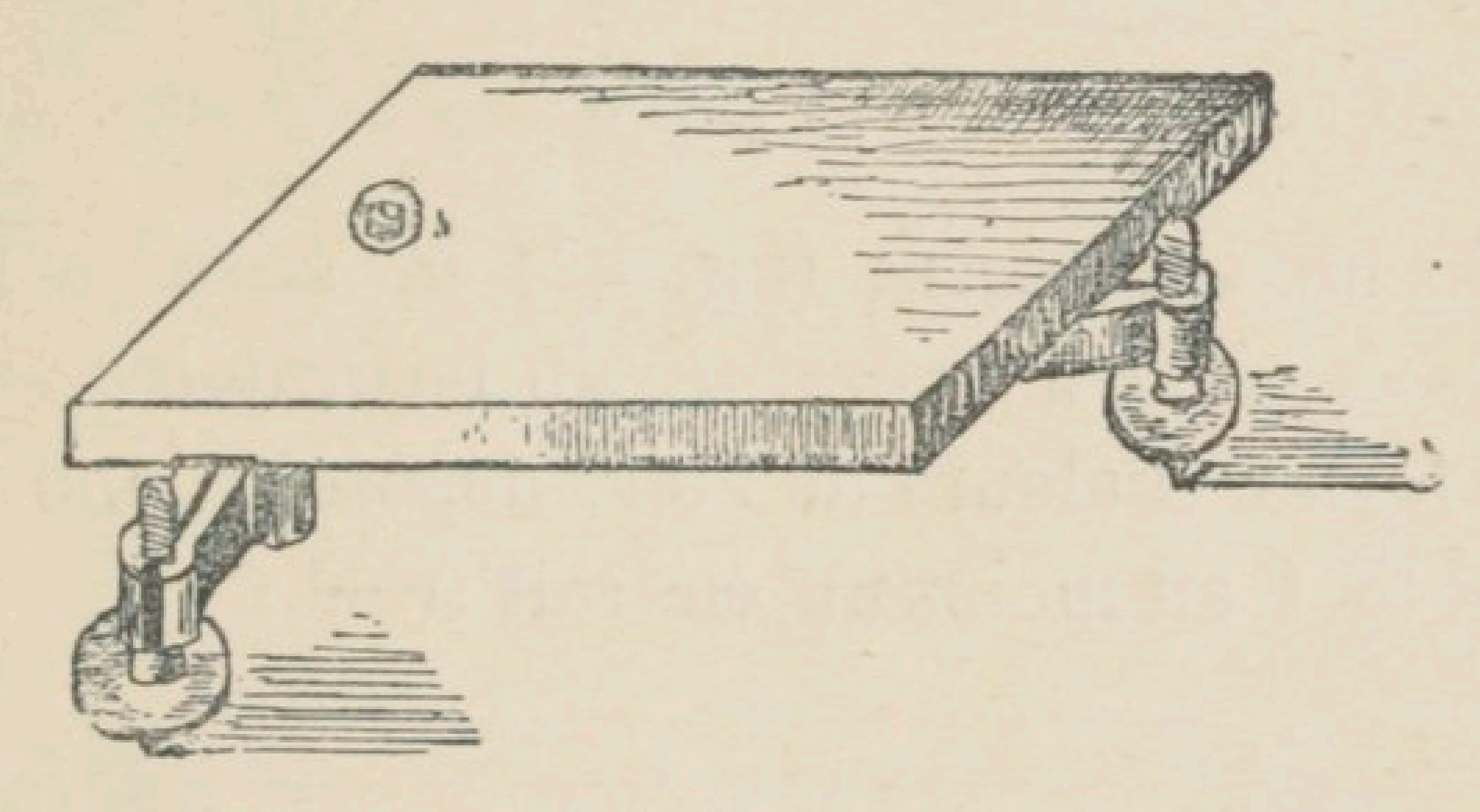


Fig. 26. — Planchette à vis calantes.

en inclinant le tube en tous sens et en le roulant entre les doigts en ayant bien soin de ne pas atteindre la bourre de ouate et de ne pas donner naissance à des bulles d'air, l'eau et la gélatine ; ceci fait, et avant que cette dernière ne se soit solidifiée, on verse le contenu de chaque tube sur une plaque de verre flambée posée très horizontalement au-dessus d'un cristallisoir rempli d'eau froide et même glacée, sur un trépied à vis calantes (fig. 26).

Cette opération à peine terminée, la plaque est recouverte d'une cloche de verre également flambée et, une

fois que la gélatine est parfaitement solidifiée sur toutes les plaques, celles-ci sont posées horizontalement sur une sorte d'étagère (fig. 28) et transportées dans une chambre humide aseptique, formée d'un cristallisoir

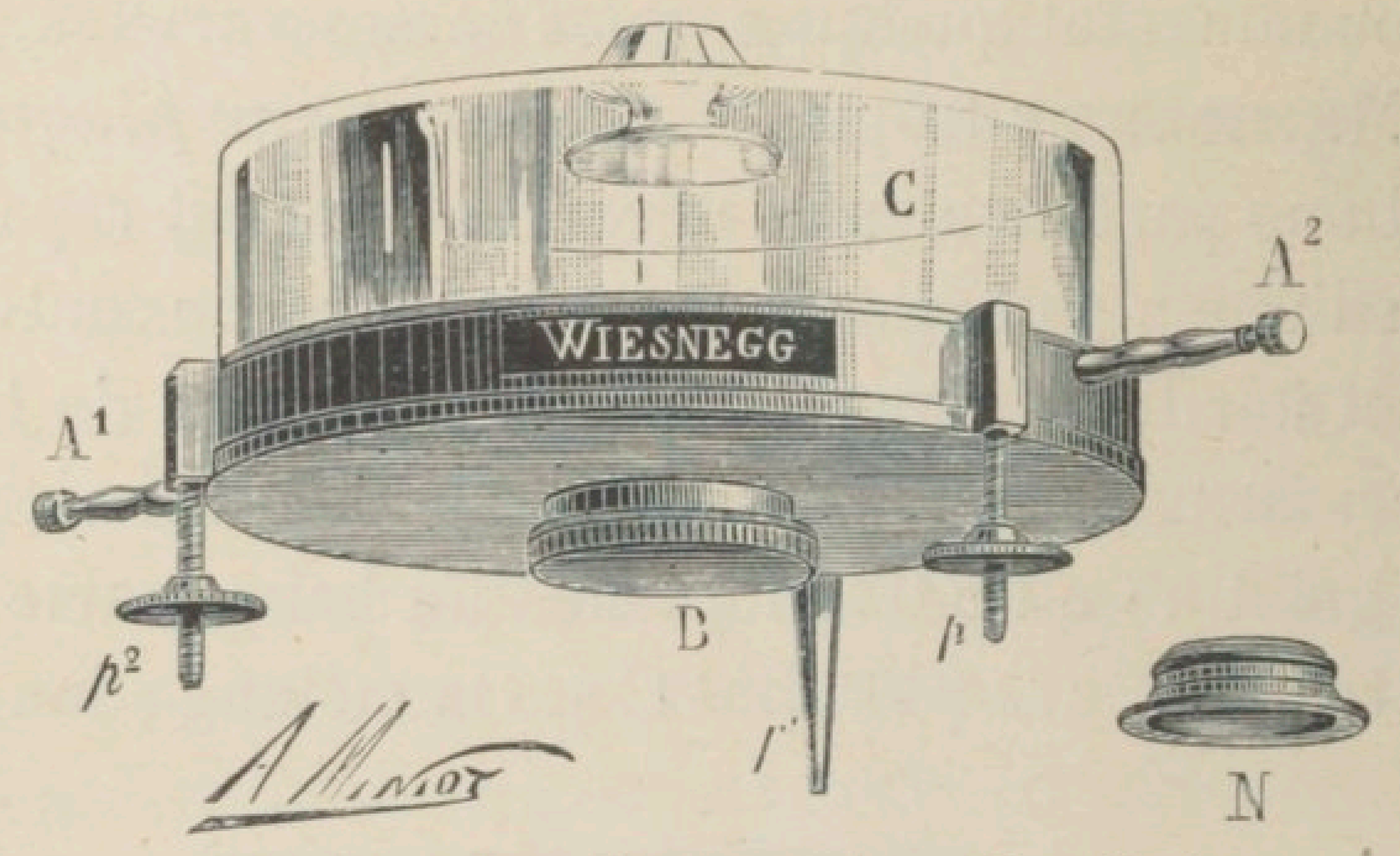


Fig. 27. — Appareil pour plaques de gélatine.

avec cloche surbaissée (fig. 27) et mises à l'étuve à 20°, laissées à la température du laboratoire ou même, par les fortes chaleurs de l'été, déposées dans une glacière ou tout au moins un endroit frais.

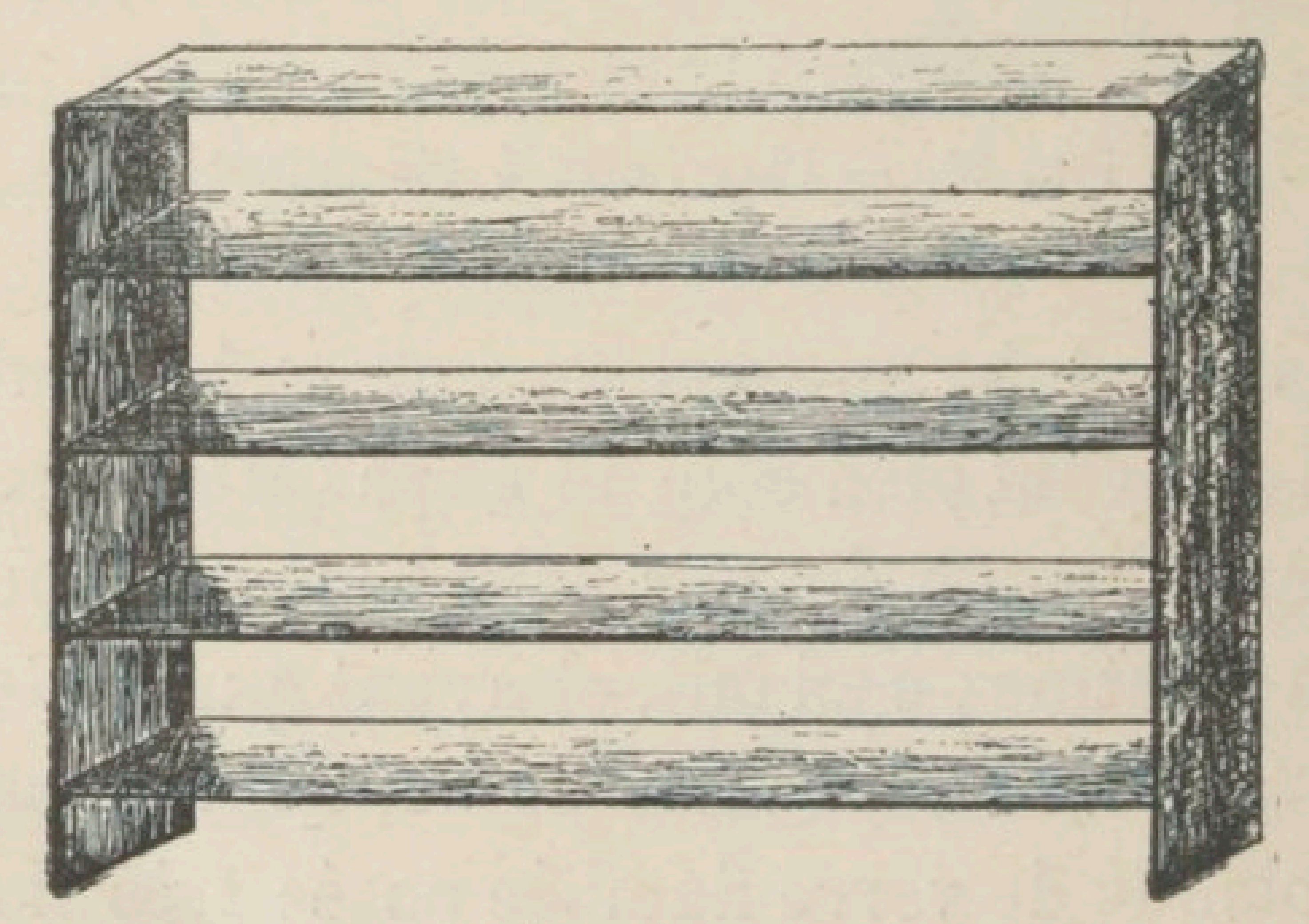


Fig. 28. — Étagère pour plaques.

Bien entendu au cours de toutes ces manipulations il est indispensable d'éviter, autant que faire se peut, toutes les contaminations d'ordre atmosphérique ou autre.

Les colonies apparaissent bientôt, sous forme de points, partout où un germe microbien s'est trouvé em-

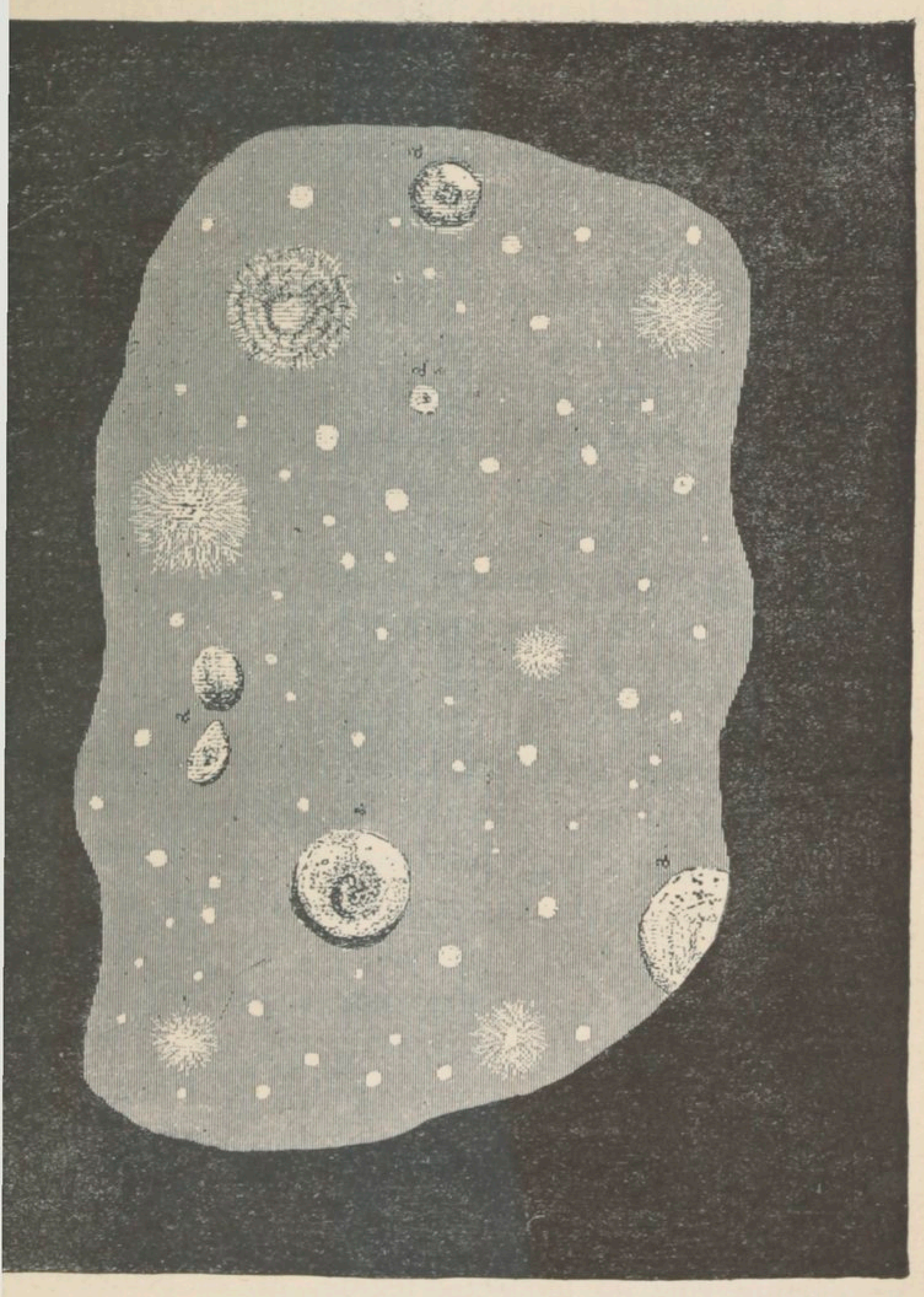


Fig. 29. — Aspect d'une culture sur plaques.

prisonné ; elles grossissent et prennent des caractères qui sont propres à chaque espèce, d'autres encore ap-

paraissent à plusieurs jours d'intervalle ; lorsqu'on juge que toutes sont devenues visibles, chaque plaque est retirée de la chambre humide, placée sur une autre plaque quadrillée et, soit à l'œil nu, soit en s'aidant de la loupe ou même d'un faible grossissement microscopique, le bactériologue compte les colonies ainsi écloses et en déduit le chiffre des bactéries renfermés dans le volume d'eau ensemencée.

Rien de plus simple, on le voit, et ce serait parfait s'il n'existait pas quelques inconvénients et d'assez grosses causes d'erreurs que je ferai connaître en détail lorsque, bientôt, je me livrerai à la critique des divers procédés d'analyse microbiologique des eaux.

M. Proust[1] a apporté à cette méthode générale quelques modifications ; je noterai un fait auquel il attache, à tort, (mais c'était l'idée régnante à l'époque où furent faites ses analyses), une grande importance : la liquéfaction plus ou moins hative de la gélatine, liquéfaction qui commencerait du 10e au 12e jour pour une eau très pure, au 8e jour pour une eau pure, au 4e jour pour une eau mauvaise, du 2e au 3e jour pour une eau infecte. Ce phénomène ne signifie pas grand chose et j'ai pu observer notamment au cours des analyses comparatives des eaux du Rhône et de la Saône que je poursuis depuis plusieurs années que les eaux de cette dernière rivière qui sont autrement impures que celles du Rhône renferment cependant infiniment moins de microbes liquéfiants.

Cette observation est appelée peut-être à jouer un certain rôle en médecine légale, M. le professeur

[1] *Revue d'hygiène*, p. 915, 1884.

Lacassagne ayant observé que la putréfaction des cadavres de noyés était beaucoup plus hâtive dans le Rhône, dont les flots sont si purs, que dans la Saône, toujours plus ou moins souillée. Il y a peut-être une certaine corrélation, que M. Lacassagne et moi chercherons à contrôler, entre ces deux observations.

Je dois le dire dès à présent, un des reproches fondamentaux que dès le début on a fait à la méthode de Koch, est de ne pas suffisamment mettre à l'abri des causes d'erreur résultant de la contamination des plaques par l'air atmosphérique. Ces plaques, en effet, restent un certain temps exposées à l'air avant et après la solidification de la gélatine et peuvent ainsi recevoir quelques germes aériens, qui font souche de colonies superficielles sur le milieu nutritif. Je sais bien qu'on a prétendu qu'un observateur exercé saurait toujours reconnaître l'origine de ces colonies, mais ceci est quelque peu aléatoire et le fait n'en persiste pas moins. Aussi n'est-il pas étonnant que les bactériologues qui ont suivi les errements du savant de Berlin aient cherché, par toutes sortes d'artifices, à se mettre à l'abri de cette cause d'erreur, d'où l'origine d'un certain nombre de variétés de la méthode originale.

B. Procédé de M. Ch. Girard. — C'est ainsi qu'en 1885, M. Ch. Girard[1], directeur du laboratoire municipal de Chimie de la ville de Paris, qui, pour répondre aux exigences du Comité consultatif d'Hygiène, avait dû entreprendre, concurremment avec les analyses chimiques, des analyses biologiques des eaux (comme il

[1] Ch. Girard, L'analyse biologique des eaux au laboratoire municipal de Paris (*Revue d'hygiène*, t. VII, p. 391, 1885).

les appelle), donna la description du procédé dont il se servait et qui ne différait de celui de Koch que par la substitution d'un flacon à fond large et plat à la plaque de verre.

Voici de quelle façon opère M. Ch. Girard :

Il emploie comme milieu nutritif une gélatine préparée suivant la formule donnée par le docteur Angus Smith[1] :

Eau.	1000 grammes.
Gélatine blanche.	40 —
Phosphate de soude.	0.2 centigrammes.

On clarifie avec un blanc d'œuf, on fait bouillir, on filtre et on stérilise dans l'autoclave à 115°.

Une semblable gélatine ne se liquéfie, d'après M. Ch. Girard, qu'à 34° centigrades. On répartit le milieu nutritif ainsi préparé et liquéfié à la dose de 10 centimètres cubes dans des fioles coniques à fond plat, dont le diamètre, à la base, est d'environ 9 centimètres ; puis on stérilise à nouveau à l'autoclave. Chaque fiole a été au préalable bouchée avec un bouchon percé de deux trous, dont l'un donne passage à un tube de verre muni d'un tampon de ouate et dont l'autre est traversé par une burette à entonnoir. Alors que la gélatine est maintenue liquéfiée à une température aussi basse que possible, on laisse tomber par la burette 1 centimètre cube de l'eau à analyser, diluée au 1/000 ; on agite doucement en tous sens pour opérer le mélange, puis on place tous les flacons ainsi ensemencés, après avoir obturé l'ouverture destinée à la burette, à l'étuve réglée à 24°-25° centigrades.

On observe chaque jour l'apparition et le développement des colonies ; celles-ci, dit M. Girard, n'augmen-

1 *Revue d'hygiène*, p. 778, 1883.

tent plus en nombre à partir du troisième jour, ce qui me paraît inexact, et alors, ajoute-t-il, on n'a plus, en s'aidant d'un quadrillage tracé sur le fond de la fiole, qu'à compter, à l'œil ou à la loupe, les colonies qui se sont formées. Leur nombre, si on a ensemencé 1 centimètre cube d'eau au 1/000, multiplié par 1.000, donne la teneur en microbes d'un centimètre cube de l'eau analysée.

Kowalesky[1], qui, depuis 1885, a effectué un très grand nombre d'analyses bactériologiques des eaux de Vienne, en Autriche, utilise un procédé assez analogue à celui de M. Ch. Girard. Comme celui-ci, il se sert de matras en entonnoir renversé et à fond très large, dans lesquels il mélange l'échantillon d'eau avec de la gélatine.

C'est aussi un procédé quelque peu analogue qu'emploie Miquel, lorsqu'il se sert, ce qui est rare, de la gélatine comme milieu nutritif[2].

Dans un vase conique de 12 centimètres de diamètre à la base, par conséquent à fond plat, très large, sur 5 centimètres de hauteur, à col étroit, muni d'un capuchon rodé et tubulé[3], obturé avec un tampon de ouate, il introduit 30 à 40 centimètres cubes de gélatine très limpide, nutritifiée par du bouillon de bœuf ou de la peptone. Ce vase est stérilisé à l'autoclave à 110°.

Quelques instants avant de pratiquer l'analyse, on liquéfie la gélatine en plaçant le vase conique dans une

1 Kowalesky, Ueber bacteriol. Wasseruntersuchungen (*Wiener klin. Wochenschrift*, nos 10, 16, 1888).

2 Miquel, *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris*, p. 400 et suiv., 1890.

3 Voir sa figure 60 de l'*Annuaire de Montsouris*, pour 1890, p. 402.

étuve Gay-Lussac, chauffée à 35° ; la gelée une fois fondue, l'eau à doser est introduite dans le vase avec les précautions d'usage ; on mélange le tout en penchant le liquide dans plusieurs sens, puis la fiole conique est posée sur une caisse de cuivre bien dressée, dans l'intérieur de laquelle circule un courant d'eau à 14°-15° ; la gelée prise, la fiole est exposée à l'étuve à 18°-20° et on l'observe toutes les vingt-quatre heures, en notant chaque fois le chiffre des colonies développées, jusqu'au jour, malheureusement trop rapproché, dit Miquel, ou un ou plusieurs des îlots envahissants ou liquéfiants auront anéanti le substratum solide et avec lui le semis collectif des microbes ; pour remédier dans une certaine mesure à ce grave inconvénient, Miquel emploie toujours de l'eau diluée à des puissances élevées.

Il est, d'autre part, très difficile d'aller, dans de semblables fioles, cueillir telle ou telle colonie pour l'apporter sous le microscope ou l'ensemencer sur de nouveaux milieux, afin de déterminer chaque espèce. Aussi Miquel, pour éviter cet ennui, qui est, en somme, considérable, emploie-t-il, dans ses recherches qualitatives sur les bactéries des eaux, soit des vases coniques beaucoup plus petits, de 5 à 6 centimètres de diamètre, soit un appareil déjà connu, consistant en des boîtes de cristal soudées, mais forées à leur centre d'un trou dans lequel s'engage un tube muni d'une bourre d'ouate[1] ; le tube et l'ouverture sont usés à l'émeri. C'est par ce tube que se fait l'ensemencement et l'aération de la surface de la gélatine. Pour prélever les colonies, il suffit de soulever le couvercle de la boîte.

1 Voir figure 61 de l'*Annuaire* de 1890.

Sous le nom de *procédé mixte*[1], M. Miquel décrit encore un *modus operandi*, qui ne me paraît pas différer essentiellement du précédent, si ce n'est qu'au lieu d'ensemencer dans chaque flacon conique ou dans chaque boîte tubulée un très grand nombre de gouttes d'eau diluée, on ne laisse tomber dans chaque récipient qu'une ou deux gouttes, lesquelles sont censées ne renfermer théoriquement qu'un seul germe. C'est, en somme, la *méthode du fractionnement*, avec, comme substratum nutritif, un milieu solide au lieu d'un liquide.

Comme dans le procédé du fractionnement dans le bouillon, un très grand nombre de flacons ou de boîtes (72 pour chaque analyse) deviennent nécessaires, ce qui complique singulièrement l'opération.

Le principal avantage de la méthode réside dans ce fait que lors même que chaque goutte de la dilution renfermerait 2 et même 3 ou 4 germes, chacun de ceux-ci se développe isolément dans la gélatine et qu'il n'est point, par conséquent, indispensable de déterminer le titre de la dilution de façon aussi rigoureuse que lorsque l'ensemencement est opéré dans les conserves de bouillon.

PROCÉDÉ D'ESMARCH *ou des plaques enroulées.* — Esmarch, de son côté, en Allemagne, frappé des inconvénients des plaques de Koch en ce qui concerne les risques de contamination atmosphérique, proposait, à titre de méthode générale pouvant être utilisée dans l'analyse microbiologique des eaux, un procédé extrêmement simple et des plus élégants auquel son nom est

[1] Miquel, *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris*, p. 409. 1890.

resté attaché et qui rend chaque jour de très grands services dans les laboratoires de Microbie.

Une faible quantité (3 à 4 centimètres cubes) de gélatine nutritive est versée dans un tube à essai, de diamètre ordinairement supérieur à celui des tubes qui servent pour les cultures en piqûre ou en strie. Tubes et gélatine sont, cela va sans dire, parfaitement stérilisés.

Pour l'analyse de l'eau, on laisse tomber dans chaque tube, après avoir liquéfié la gélatine, une quantité déterminée d'eau ; on opère par des mouvements de va-et-vient et de roulement, le mélange intime de l'eau et de la gélatine, puis lorsque cette dernière commence à devenir légèrement visqueuse, on l'enroule très régulièrement sur toute la surface interne du tube en roulant celui-ci horizontalement entre le pouce et l'index de chaque main, au dessous d'un courant d'eau froide fournie par un robinet ; il faut avoir grand soin d'éviter que la gélatine ne vienne au contact du tampon d'ouate qui ferme ce tube. Avec quelque habitude, laquelle est très vite acquise, on arrive à étaler ainsi cylindriquement la gélatine en couche très mince et parfaitement uniforme en tous ses points.

On obtient, de cette facon, une plaque enroulée qui n'a pas subi le contact de l'air, qui n'a, par conséquent, pas pu se polluer, et aucun des germes introduits avec l'eau n'est perdu. Les tubes ainsi préparés sont placés horizontalement à l'étuve à 20°, et lorsque les colonies ont apparu et n'augmentent plus de nombre, on les compte, grâce à une série de traits tracés sur le tube et servant de points de repère.

S'il n'existait dans les eaux aucune colonie microbienne liquéfiante, ce procédé donnerait les résultats les

plus parfaits que peuvent fournir les méthodes de culture sur gélatine, mais il n'en est malheureusement pas ainsi et la présence même de très rares colonies liquéfiantes suffit à rendre l'observation et la numération impossibles au bout de très peu de jours. Dupont[1] (de Rotterdam), après une série de tâtonnements, a fini par employer la méthode d'Esmarch à laquelle il a fait subir quelques modifications de peu d'importance, du reste, et qu'il est inutile de signaler ici.

PROCÉDÉ DE M. LE PROFESSEUR ARLOING. — M. le professeur Arloing qui est resté fidèle aux méthodes de culture dans les liquides et dont j'ai décrit un procédé par fractionnement dans le bouillon, a cependant voulu utiliser les milieux à la gélatine dans l'analyse bactériologique des eaux; mais frappé, dès le début, de certains des inconvénients qui ont déjà été signalés, il a cherché à y remédier par l'emploi d'un outillage et d'une technique qui lui appartiennent en propre et qui portent son nom.

L'instrument essentiel est connu, en effet, sous le nom d'*analyseur bactériologique des eaux, de M. Arloing*.

J'en donne la description et la figure empruntées au deuxième volume du *Compte rendu des travaux du Conseil d'hygiène du département du Rhône* de 1860 à 1885, par M. le professeur Lacassagne, qui a eu le grand mérite de faire connaître au monde savant les travaux importants intéressant l'hygiène publique à Lyon durant la période sus-énoncée.

1 Dupont (J. J.) *Over micros. Drinkwaterouderzak*, etc. Rapport au de openb. Gezondheit. van Rotterdam, 1888.

L'*analyseur* de M. Arloing[1] consiste en une boîte rectangulaire en cuivre nickelé, de 25 centimètres de longueur sur 8 centimètres et demi de largeur et 36 millimètres de profondeur (fig. 30). Cette boîte est munie d'un couvercle formé de deux lames de verre mobiles autour de charnières placées sur les deux bords externes les plus étroits. Les pièces du couvercle, au lieu de se juxtaposer, laissent entre elles un intervalle de 7 millimètres qui est occupé par un couvre-joints en métal, d'une disposition spéciale. Effectivement, ce couvre-joints achève de fermer la boîte en glissant sur les lames de verre, d'avant en arrière, sous l'influence de la moindre traction. Il est pourvu : 1° au milieu, d'un orifice fort étroit T, où s'engage le tube capillaire qui prolonge la pipette avec laquelle on a recueilli l'eau que l'on soumet à l'analyse ; 2° de deux languettes métalliques souples *a*,*a* fixées à droite et à gauche du précédent orifice, entre lesquelles est reçue la pipette, de sorte que le moindre mouvement de déplacement imprimé à cette dernière, dans un sens ou dans l'autre, entraîne immédiatement le couvre-joints de la même quantité.

Une plaque de cuivre d'une surface égale à celle de la plaque de verre quadrillée sur laquelle est étalée la gélatine et qui sera bientôt décrite, munie d'une crémaillère sur sa face inférieure peut courir sur le fond de la boîte, grâce à un pignon qui se meut à l'aide du bouton extérieur 7. Cette plaque est pourvue à ses angles de quatre montants prismatiques *c*, *c* garnis de ressorts entre lesquels est pincée horizontalement la plaque en

[1] Arloing, Appareil pour l'analyse bactériologique des eaux (*Revue d'hygiène*, 1888, p. 475 (avec figure).

verre quadrillée 1 recouverte de gélatine nourricière. Le bouton extérieur 7 tourne en présence d'un index

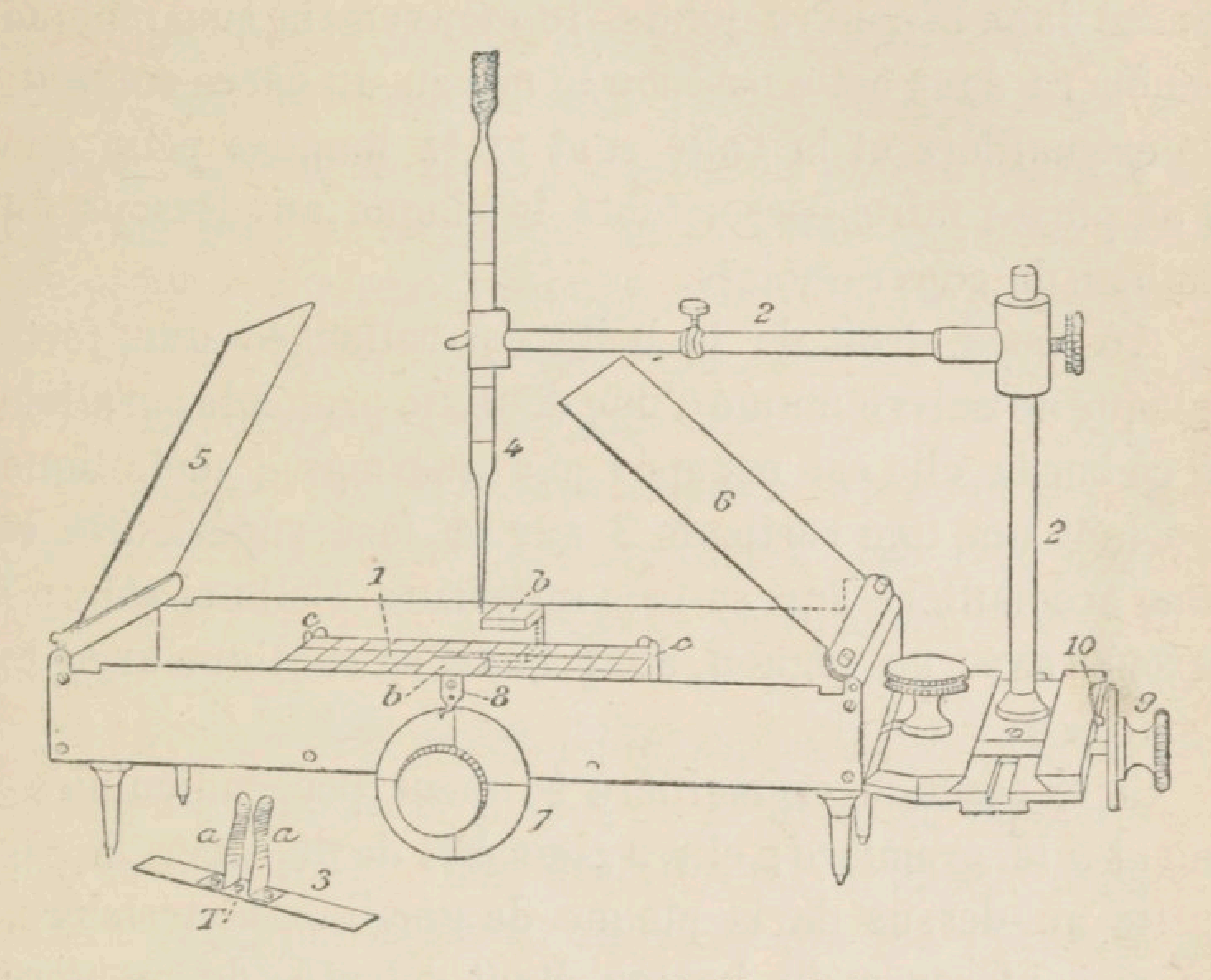


Fig. 30. — Analyseur de M. Arloing.

1. Plaque de verre quadrillée; *c*, *c*, montants prismatiques supportant la plaque.
2. Tige coudée servant de support à la pipette.
3. Couvre-joints métallique; *a*, *a*, languettes métalliques servant à maintenir l'extrémité de la pipette; T, orifice étroit du couvre-joints.
4. Pipette graduée de distribution.
5-6. Couvercles vitrés à charnières.
7. Bouton pour le mouvement de la plaque.
8. Index.
9-10. Bouton pour le mouvement de la pipette.

8 fixé sur la paroi intérieure de la boîte ; il porte des crans dont l'écartement est calculé de telle sorte que le passage de deux d'entre eux au-devant de l'index fait avancer la crémaillère de 1 centimètre.

Par conséquent, si le milieu d'un des carrés de la plaque quadrillée se trouve juste au-dessous du trou percé dans le couvre-joints, le mouvement sus-indiqué amènera dans cette position le milieu du carré suivant; la crémaillère et la boîte sont assez longues pour que l'on puisse faire passer toute la plaque au-dessous du milieu du couvre-joints.

Au bord droit de la boîte est rattachée une forte plaque de cuivre munie d'une coulisse profonde parallèle à ce bord ; elle est occupée par une masse métallique portant une tige verticale 2 sur sa face supérieure, et une crémaillère sur sa face inférieure. Celle-ci est engrenée avec un pignon dont l'axe se continue avec le bouton 9.

Cette seconde crémaillère se meut perpendiculairement à la première ; elle a pour but de déplacer la pipette au-dessus de la plaque de gélatine nourricière, la circonférence du bouton étant calculée de manière qu'un demi-tour fasse progresser la pipette de 1 centimètre.

La plaque sur laquelle est étalée la gélatine nourricière est en verre assez épais, de 12 centimètres de longueur sur 5 centimètres de largeur ; elle se trouve divisée par des traits au diamant en soixante carrés égaux.

Il est préférable, pour empêcher la gélatine de s'écouler en dehors, d'en rehausser les bords au moyen d'un mince cordon en émail vitrifié.

Pour se servir de l'analyseur d'Arloing on commence, ou bien par le stériliser à l'étuve, ou bien on se contente d'humecter la face interne de la boîte avec de la glycérine au sublimé, ou avec une simple solution de

bichlorure de mercure, et de rabattre les couvercles; les poussières en suspension ne tardent pas alors à se fixer aux parois où elles demeurent immobilisées.

Ceci fait, on ouvre la boîte avec précaution dans une atmosphère calme et on y dépose la plaque chargée de gélatine-peptone stérilisée, après avoir toutefois eu la précaution de porter toute la crémaillère à gauche.

Les deux couvercles sont alors rabattus et le couvre-joints métallique est placé entre eux.

La gélatine est dès lors enfermée à l'abri de l'air, l'intérieur de la boîte ne communiquant plus avec l'extérieur que par le trou fort petit percé dans le couvre-joints.

M. Arloing, afin d'éviter les risques de contamination atmosphérique de la plaque de gélatine au moment où elle est introduite dans l'analyseur, a même, depuis, modifié quelque peu à ce point de vue son appareil. Il a fait pratiquer dans la paroi latérale gauche, au-dessous de la charnière du couvercle, une fente de la largeur de la plaque quadrillée, fente que l'on découvre en relevant un petit volet métallique, à l'aide d'un simple mouvement de bascule; c'est par cette fente que l'on fait glisser la plaque de gélatine tenue horizontalement, laquelle vient tout naturellement prendre sa place sur les supports qui lui sont destinés, le couvercle restant hermétiquement clos.

Voici maintenant comment on opère pour répartir l'eau à sa surface :

La pipette qui contient l'eau à analyser est agitée avec précaution afin de mettre uniformément en suspension les germes qu'elle renferme. On la flambe avec soin. On la fixe verticalement à l'extrémité du bras hori-

zontal, et on l'engage entre les deux ressorts du couvre-joints.

L'extrémité du tube capillaire, préalablement coupée, est introduite alors à travers le pertuis de ce couvre-joints, et elle vient se placer ainsi au-dessus du milieu du premier carré de la plaque de verre quadrillée. Une goutte d'eau tombe au milieu de ce carré et forme une saillie hémisphérique sur la gélatine. En attendant la chute de la goutte suivante on a le temps de faire courir la plaque vers la droite, de manière à la recevoir sur le milieu du second carré. On procède ainsi jusqu'à ce que l'on ait déposé une goutte d'eau au milieu des douze carrés qui composent la première rangée.

Pendant cette opération la plaque de gélatine a été entièrement transportée à droite de l'extremité de la pipette. Pour ensemencer les carrés de la deuxième rangée, on meut le pignon de la crémaillère porte-pipette de deux crans. Cette manœuvre a pour effet de transporter l'extrémité de la pipette au-dessus du milieu du dernier carré de la seconde rangée. Dès qu'une goutte d'eau est tombée sur le carré, on déplace la plaque de gélatine en sens inverse, c'est-à-dire de droite à gauche, de carré en carré jusqu'au premier.

On fait tourner de nouveau le pignon de la crémaillère porte-pipette de deux crans afin de se placer au-dessus du milieu du premier carré de la troisième rangée, et ainsi de suite jusqu'à ce que les soixante carrés de gélatine aient reçu chacun une goutte d'eau.

Lorsque la répartition de l'eau est achevée, on retire la plaque de gélatine et on la transporte dans un cristallisoir à incubation.

Les germes contenus dans chaque gouttelette d'eau

s'appliquent sur la gélatine nourricière, et forment en végétant des colonies qui occupent exactement le milieu des carrés.

C'est précisément à ce caractère topographique, ajoute M. Arloing, que l'on distinguera les germes de l'eau de ceux qui seraient tombés accidentellement de l'atmosphère, car il y a de grandes chances pour que ces derniers ne se superposent pas à ceux de l'eau au centre de figure des carrés tracés sous la plaque de gélatine. Cette opération donne tous les avantages que l'on est en droit d'en attendre à condition que la gélatine soit, avant l'ensemencement, bien solidifiée, et que la goutte d'eau, en arrivant à son contact, n'ait aucune tendance à se diffuser dans son épaisseur.

Pendant les fortes chaleurs il conviendra donc d'ajouter une certaine quantité d'agar-agar à la gélatine, ou bien d'opérer dans un local où la température laisse à la gélatine une solidité suffisante.

Ce nouveau procédé de M. Arloing est, on le comprend aisement, à celui de MM. Chauveau et Arloing basé sur le fractionnement dans les liquides, comme le procédé sur gélatine de Miquel est à celui du fractionnement dans le bouillon du même auteur. Il nécessite malheureusement un appareil spécial quelque peu compliqué et assez coûteux, et c'est à cela probablement qu'il a dû de ne pas entrer davantage dans la pratique.

Il faut de plus pour se servir, sans dangers de contamination, de l'analyseur bactériologique une certaine habileté manuelle qu'il n'est pas donné à tout le monde de posséder. Cet appareil n'en est pas moins extrêmement ingénieux et rendra dans quelques cas de signalés services.

Procédé de M. Rietsch de Marseille. — Ce procédé est celui que M. Rietsch a appliqué à ses recherches bactériologiques sur les eaux d'alimentation de la ville de Marseille [1].

L'eau recueillie dans les pipettes précédemment décrites est versée dans un godet de verre stérilisé immédiatement muni de son couvercle ; en imprimant divers mouvements de va et vient à celui-ci, on cherche à répartir dans le liquide aussi également que possible les bactéries qu'il peut renfermer; puis au moyen d'une pipette graduée stérilisée on aspire et on refoule à plusieurs reprises, afin de parfaire le mélange, l'eau du godet jusqu'à ce qu'enfin on en aspire 2 centimètres cubes qui sont répartis, sans trop se soucier de la quantité exacte, dans quatre godets de verre analogues à ceux que MM. Nicati et Rietsch, avaient déjà utilisés et décrits en 1884 et 1885 lors de leurs recherches sur le choléra [2], et qui depuis ont été imités par Petri *(Centralb. f. Bacteriol.*, I, 9 février 1887), auquel les Allemands et pas mal de Français en attribuent la paternité. Voici comment en 1885, MM. Nicati et Riestch décrivaient ces godets qui sont restés tels quels :

« Ce sont des vases cylindriques de 3 à 5 centimètres de diamètre, à fond plat, à rebords peu élevés (à peu près de 1 à 2 centimètres, pour permettre l'examen à la loupe ou au microscope) ; d'autres vases de même forme mais un peu plus larges et à rebords un peu plus bas leur servent de couvercles, ces deux godets s'emboîtent

[1] Rietsch, Recherches bactériologiques sur les eaux d'alimentation de la ville de Marseille *(Marseille médical*, 1890).

[2] W. Nicati et Rietsch, Recherches sur le choléra *(Arch de physiologie*, 30 juin, 1885, nº 5. p. 87).

l'un sur l'autre comme les deux parties d'une boîte à pilules; ils sont stérilisés à l'étuve ou par le flambage; le couvercle n'en est soulevé que pour couler la gélatine et est aussitôt replacé. »

De plus sur la face extérieure du fond du godet inférieur des traits parallèles distants d'environ 4 millimètres sont tracés au diamant et servent de points de repère pour la numération des colonies, qui peut facilement s'opérer, même sous le microscope, en renversant les godets. Ces godets sont enveloppés chacun dans du papier à filtrer ordinaire, stérilisés ainsi par la chaleur sèche et conservés dans des boîtes dont on ne les retire qu'au moment de l'usage. Pour procéder à l'ensemencement, voici comment opère M. Rietsch :

On introduit directement dans chaque godet un demi-centimètre cube d'eau puisée, ou bien un demi-centimètre cube du mélange de 1/10 de cette eau avec 9/10 d'eau distillée stérilisée. Ceci fait, on ajoute de la gélatine stérilisée en quantité suffisante pour former une mince couche sur le fond du godet; on mélange par agitation et on solidifie rapidement en plaçant les petits appareils sur une surface froide.

Si M. Rietsch agit comme il vient d'être dit, c'est pour éviter qu'aucune portion de l'eau ensemencée ne puisse rester dans le tube à gélatine, comme cela arrive avec les cultures sur plaques; il a parfaitement raison, mais je ne vois pas bien pourquoi au lieu de verser l'eau dans la gélatine comme cela se pratique d'ordinaire, il fait l'inverse, à moins que ce ne soit, ce qui est probable, étant donnés le faible volume de la gélatine et son étalement immédiat dans la petite cupule, pour éviter sa trop hâtive et prématurée solidification. Ceci n'a du reste pas

grande importance; cependant en raison de la viscosité de la gélatine on risque, en la transvasant, de saisir au passage, avec elle, des germes de l'air plus qu'on ne le ferait avec l'eau plus fluide et plus rapidement coulante.

La numération des colonies et le calcul pour le rapport au centimètre cube se font ici de la même façon que dans les procédés déjà décrits. M. Rietsch ne se dissimule pas les quelques imperfections de sa méthode qui sont au reste communes à toutes celles du même genre, mais opérant toujours dans des conditions identiques, il obtient naturellement des résultats parfaitement comparables, et c'est là l'essentiel.

PROCÉDÉ DE M. G. ROUX. — Ce procédé, qu'après bien des tâtonnements et de nombreux essais j'ai définitivement adopté et que j'ai décrit, le 8 février 1890, dans un rapport à M. le Maire de Lyon[1], puis à la Société nationale de médecine de la même ville, ne présente, dans sa facture, rien de bien nouveau : il est basé sur la dilution de l'eau à un titre déterminé et sur son ensemencement dans la gélatine peptone; il n'a d'original, indépendamment de la façon dont la gélatine est étalée dans des tubes à essai d'assez grand diamètre, que l'enregistrement des colonies, au fur et à mesure de leur apparition, au moyen de la photographie par application des tubes sur un papier sensible, et encore cet artifice n'est que rarement rendu nécessaire lorsque la dilution de l'eau a été faite à un titre convenable.

Je me suis toujours très bien trouvé de l'emploi de ce

[1] G. Roux, *Programme des analyses microbiologiques des eaux de la ville de Lyon*. Publications de la ville de Lyon. Amélioration du service des eaux, p. 13, 1890.

procédé qui, maintes fois, dans des analyses comparatives, m'a donné des résultats sensiblement semblables à ceux fournis par la méthode du fractionnement dans le bouillon ; mais comme ces résultats n'ont été obtenus que grâce à l'observation rigoureuse et stricte des règles d'une technique fixée dans ses moindres détails, je crois devoir, afin que ceux qui voudront s'en servir n'éprouvent aucun déboire et puissent en vérifier l'exactitude relative, décrire avec le plus grand soin mon *modus operandi* et insister sur des particularités qui, au premier abord, pourront paraître oiseuses et puériles, mais que je considère comme extrêment importantes.

J'ai déjà, dans un précédent chapitre, indiqué de quelle façon j'opérai le puisage et le transport des eaux ; je n'ai donc plus à m'occuper ici que de la mise en culture et de la numération.

Le tube-pipette scellé renfermant l'eau (les deux tiers seulement du tube doivent être remplis), est agité à plusieurs reprises et violemment dans tous les sens, de manière à répartir aussi également que possible, dans toute la masse du liquide, les bactéries qui s'y trouvent renfermées.

On le désinfecte ensuite soigneusement à sa surface par un lavage au sublimé (5/1000), à l'alcool et à l'éther, ou par un flambage superficiel de la pointe. Au moyen d'une fine lime ou d'un couteau à verre flambés, on pratique rapidement un trait assez profond à la base de l'effilure que l'on brise ensuite avec la plus grande facilité dans la flamme d'un bec Bunsen, au moyen d'une forte pince, flambée, elle aussi. Le tube-pipette, pendant ce temps, doit être maintenu fortement incliné, dans une position presque horizontale, afin d'éviter la

chute dans son intérieur des germes de l'air qui, on le sait, dans une atmosphère calme, obéissent absolument aux lois de la pesanteur et tombent normalement aux surfaces.

Par l'ouverture ainsi produite, le tube étant toujours maintenu, avec la main gauche, dans une position très oblique, on introduit d'un seul coup et sans tâtonnement, avec la main droite, une pipette graduée, stérilisée, construite comme il va être dit et courbée à angle droit à peu près au niveau de la base de l'effilure très allongée. Cette pipette est, bien entendu, rapidement flambée dans la flamme d'un bec Bunsen, immédiatement avant l'usage, et sa pointe brisée avec une pince au niveau même d'un trait pratiqué à l'avance dans le verre.

Ces pipettes doivent posséder deux qualités : elles seront suffisamment longues pour que leur extrémité puisse atteindre le fond des tubes les plus grands ; leur portion effilée doit être assez résistante pour supporter les traits de lime nécessaires à la graduation. Pour les fabriquer [1], on prend un tube de 20 à 25 centimètres de longueur et d'un calibre de 5 millimètres. La partie moyenne de ce tube est présentée au dard d'un chalumeau à flamme moyenne et ne doit être étirée que lorsque le verre a subi un degré de fusion assez avancé. La traction sur les extrémités sera lente et uniforme. Les deux pipettes résultant de l'opération auront leur pointe scellée avec soin. Le corps de la pipette doit être long

[1] Ces détails sur la fabrication des pipettes graduées sont dus à mon préparateur M. Ch. Pittion, auquel je dois aussi les figures nouvelles de ce livre et que je suis heureux de remercier du précieux concours qu'il m'a apporté dans l'exécution des analyses d'eau.

de 10 centimètres environ ; on donnera à la partie effilée une longueur d'au moins 20 centimètres.

La graduation peut être effectuée avec assez de précision de la manière suivante :

A 1 centimètre environ de l'extrémité scellée, on trace un premier trait de lime, puis un second à 1 centimètre en arrière du premier ; ce second trait, placé par conséquent à 2 centimètres de la pointe, sera la division inférieure du centimètre cube ; nous l'appellerons zéro.

A l'aide d'une deuxième pipette très bien graduée (comme on en trouve chez les fabricants d'instruments de précision), on prend 1 centimètre cube d'eau distillée et on le verse avec précaution dans la pipette en construction. Comme l'extrémité de cette dernière est scellée, l'air qui se trouve dans la portion effilée s'oppose à ce que l'eau qui vient d'être versée arrive jusqu'à la pointe et même jusqu'au trait de lime. De l'index de la main gauche, on ferme hermétiquement l'extrémité ouverte ; de la main droite armée d'une pince, on brise la pointe au niveau du premier trait, qui devra toujours être un peu plus accentué que le trait zéro. Soulevant alors légèrement l'index de la main gauche, on laisse descendre le liquide jusqu'au trait zéro ; on pratique immédiatement un deuxième trait de lime correspondant au niveau supérieur de l'eau distillée, et on a ainsi, limité très exactement, le volume de 1 centimètre cube. Il ne reste plus qu'à chasser complètement l'eau ; la pointe est scellée de nouveau, et, après avoir introduit dans l'extrémité ouverte un petit tampon de ouate assez serré, on procède à la stérilisation par le flambage dans le four Pasteur à 160° ou 180°.

La pipette, une fois introduite dans l'eau, de façon à

ce que l'extrémité de son effilure atteigne le fond même du tube, je souffle avec la bouche, par l'extrémité libre, à plusieurs reprises; en même temps que je déplace de bas en haut et de haut en bas l'effilure; par ce moyen je provoque dans le liquide la formation de grosses bulles d'air doublement rendu aseptique par l'expiration, d'une part, et sa filtration à travers le tampon de ouate, d'autre part; cette sorte de bouillonnement brasse l'eau dans toute sa hauteur et rend plus parfaite la répartition homogène des bactéries qu'avait commencée l'agitation du tube encore scellé. Au bout de quelques secondes de cet exercice, j'aspire une quantité d'eau telle que son niveau supérieur dépasse de 1 ou 2 centimètres le trait supérieur marqué sur le verre du tube, lequel indique le point précis où commence la graduation. Je retire alors la pipette en ayant soin de maintenir fortement appliqué sur son extrémité libre l'index de la main droite, muni, cela est préférable pour avoir une fermeture hermétique, d'un doigt de caoutchouc. Saisissant alors de la main gauche un des tubes à essai renfermant 9 centimètres cubes d'eau stérilisé, qui a au préalable été placé à ma portée, dans un porte-tubes, et a été muni d'une étiquette indiquant le titre de la dilution, je le débouche dans la flamme d'un bec Bunsen en le tenant très fortement incliné, et j'y laisse tomber, après avoir, par la manœuvre de l'index droit, amené le niveau de l'eau dans la pipette juste au niveau du trait supérieur, tout le contenu de celle-ci, c'est-à-dire 1 centimètre cube juste. Je réaspire et je refoule encore 1 centimètre cube environ pour bien laver la pipette. Je rebouche immédiatement le tube dans la flamme et j'agite vivement son contenu en tous sens pour répartir

dans toute la masse du liquide l'échantillon introduit, en ayant soin toutefois de ne pas mouiller la bourre de ouate, ce qui se fait aisément si l'on a eu soin de choisir un tube assez long. Après quelques secondes d'agitation, si la dilution doit être poussée plus loin que 1/10, j'ouvre à nouveau le tube, tenu incliné, dans la flamme, je réintroduis une nouvelle pipette graduée, je souffle dans les différents plans pour parfaire le mélange et je reprends, de la même façon que précédemment, 1 centimètre cube qui est projeté dans un second tube renfermant encore 9 centimètres cubes d'eau stérilisée; j'obtiens ainsi une dilution au 1/100. En renouvelant plusieurs fois cette manœuvre, je me procure, si cela est nécessaire, des dilutions au 1/1000, au 1/10000, au 1/100000, etc. Chacun de mes tubes porte, afin d'éviter toute erreur, une étiquette sur laquelle se trouve inscrit le titre de la dilution.

Lorsque je suis arrivé enfin au titre voulu et utilisable, il ne me reste plus qu'à ensemencer un centimètre cube de l'eau du dernier tube dans la gélatine nutritive, qui est faite en ajoutant, suivant la saison, 5 à 10 pour 100 de gélatine surfine (marque dorée) au bouillon de Löffler dont la formule a été précédemment donnée.

Cette gélatine nutritive, au lieu de la verser sur des plaques comme Koch, dans des flacons à large base comme Miquel, Girard, etc, ou dans des godets comme Rietsch, Petri, je la répartis, comme le fait Esmarch, dans une série de tubes à essai à grand diamètre (1 centimètre et demi à 2 centimètres) à la dose pour chacun d'eux de deux à trois centimètres cubes tout au plus ; elle est liquéfiée au bain-marie à une température aussi basse que possible et tous les tubes qui doivent me servir

pour chaque analyse sont à ma portée sur un support quelconque.

Prenant alors une nouvelle pipette graduée j'aspire, après avoir, par refoulement d'air, bien agité le liquide, un peu plus d'un centimètre cube d'eau de la dilution choisie, j'amène le niveau très exactement en trait supérieur, et, débouchant successivement et rapidement dans la flamme chacun des tubes de gélatine, je laisse tomber, grâce à une manœuvre du doigt que l'habitude rend très facile, dans chacun d'eux, un nombre de gouttes quelconque jusqu'à ce que mon centimètre cube soit complètement épuisé. D'ordinaire, lorsque le titre de la dilution a été bien déterminé d'avance, 3, 4 ou 5 tubes au plus me suffisent pour chaque analyse.

Afin d'être bien sûr de n'avoir pas conservé adhérents aux parois de la pipette quelques germes, j'ai soin, une fois le centimètre cube distribué, d'aspirer une certaine quantité d'eau stérilisée que je laisse tomber dans un nouveau tube de gélatine ; ce dernier, je dois le dire, reste le plus ordinairement absolument stérile.

Lorsque je peux avoir à ma disposition un aide, celui-ci, au fur et à mesure que les tubes sont ensemencés avec les gouttes d'eau et bouchés, les prend et il les tourne entre les doigts, comme s'il voulait faire un tube d'Esmarch, il fait couler la gélatine dans tous les sens, en évitant de provoquer la formation de bulles d'air et il opère ainsi un mélange intime et une égale répartition des bactéries dans le milieu nutritif encore liquide.

A la rigueur, avec quelque habitude et un peu d'exercice, on peut se passer d'aide et mener à bien tout seul cette série d'opérations.

C'est ainsi que je procède le plus souvent, prenant

soin d'avoir devant moi prêtes à servir 3 ou 4 pipettes graduées et manœuvrant très rapidement de manière à ne pas laisser à la gélatine le temps de se solidifier avant la fin des opérations.

Une fois le mélange des bactéries de l'eau et du milieu nutritif obtenu par les moyens ci-dessus énoncés, je procède un peu différemment qu'Esmarch et au lieu d'enrouler en couche très mince, sous un filet d'eau, la gélatine à l'intérieur du tube, je couche celui-ci sur une planchette parfaitement horizontale et munie à ses deux extrémités d'encoches demi-circulaires. La gélatine coule sur l'une des parois du tube et s'y étale très régulièrement en formant un plan très mince et assez uniforme ; on aide à sa diffusion en soulevant le tube et en l'inclinant en différent sens et on se préoccupe surtout d'éviter à ce moment que la gélatine ne vienne jusqu'au contact de la bourre de ouate, ce qui pourrait d'abord masquer une ou plusieurs colonies et gêner ensuite plus tard pour l'ouverture du tube.

Une fois la gélatine parfaitement solidifiée une étiquette indicatrice est placée sur chaque tube qui est en outre coiffé d'un capuchon de caoutchouc afin de protéger d'une part la bourre de ouate contre la poussière et d'empêcher d'autre part la dessication trop hâtive du substratum solide ; puis tous les tubes couchés horizontalement sur leur support sont mis à l'étuve d'incubation à 20° C (étuve Babés fig. 7 avec régulateur Chancel, fig,9).

Ordinairement au bout de 48 heures les colonies commencent à apparaître ; si elles sont peu nombreuses dans chaque tube, ce qui doit être lorsque la dilution a été suffisante, il suffit de les compter à l'œil nu ou à la

loupe (je me sers avec avantage pour ces numérations et pour distinguer les colonies tout à fait à leur début des cristaux de phosphates ou des détritus quelconques inclus dans la gélatine, d'un objectif 0 ou 2 de Vérick promené le long de la face du tube sur laquelle se trouve étalée la gélatine.)

Si au contraire les colonies sont en très grand nombre j'emploie avec grand profit un papier sensible au ferricyanure de potassium dont j'enveloppe comme d'un demi-cylindre chaque tube ou que je glisse sous l'ensemble des tubes dans une rainure ménagée dans la planche-support disposée *ad hoc*, puis j'expose le tout à la lumière (avoir soin de ne pas exposer au grand soleil dont les rayons calorifiques pourraient en ce cas agir sur la gélatine de façon désastreuse, en la liquéfiant). Lorsque le papier a pris une teinte gris-bleue je le retire brusquement et le lave à grande eau puis le laisse sécher. Les colonies même les plus petites et jusqu'aux dendrites de phosphates apparaissent alors, lorsque l'application a été bien stricte, avec leur aspect général et leurs dimensions sous la forme de taches blanches sur le fond bleu de ciel du papier.

En répétant cette opération tous les 2 ou 3 jours on obtient ainsi sans peine et rapidement des empreintes parfaitement exactes qui sont de véritables pièces documentaires et permettent de compter ensuite à loisir sur le papier, sans crainte par conséquent de faire couler les colonies liquéfiantes, tous les germes qui ont fait souche.

Mais, je le répète, je n'use de cet artifice que lorsque les colonies sont trop nombreuses pour être soumises sans dommage à la numération sur le tube lui-même ; dans

le cas contraire, il n'est pas utile d'avoir recours à ce moyen détourné.

Je laisse les tubes à l'étuve à 20° aussi longtemps que possible, c'est-à-dire tant que les microbes fluidifiants n'ont pas envahi ou liquéfié la gélatine, en ayant toujours soin pour ne pas être pris au dépourvu de pratiquer des numérations tous les deux jours (il suffit en effet parfois d'une nuit pour que tout soit réduit en bouillie).

Afin d'atténuer, dans la mesure du possible, l'action nocive des colonies liquéfiantes, j'ai l'habitude dès que celles-ci apparaissent et ont pris un développement suffisant, d'aspirer avec une fine pipette stérilisée, légèrement recourbée à son extrémité, la portion liquide et de l'épuiser de cette façon en prenant bien entendu toutes les précautions pour que la surface de la gélatine ne soit pas polluée par les germes atmosphériques (inclinaison très prononcée du tube pendant l'ouverture qui se fait dans la flamme et durant le temps très court de l'aspiration).

En renouvelant de temps à autre cette petite opération il m'est arrivé de pouvoir conserver des tubes pendant 10 à 15 jours ; on pourrait renforcer en quelque sorte ce moyen de préservation en projetant, comme l'indiquent certains auteurs, une goutte de substance antiseptique telle que le sublimé sur la colonie qui liquéfie afin d'arrêter son extension. Une fois la numération définitive des colonies effectuée, comme on a ensemencé un centimètre cube tout entier de l'eau diluée à un titre quelconque on n'a pour avoir la teneur en bactéries d'un centimètre cube de l'eau initiale qu'à multiplier le nombre obtenu par le dénominateur du titre de la dilu-

tion et pour avoir la richesse au litre à multiplier par 1000 ce dernier chiffre:

L'analyse pratiquée comme il vient d'être dit m'a toujours donné d'excellents résultats maintes fois contrôlés par l'emploi d'autres méthodes ; elle a le mérite d'être très simple, de ne pas, à la rigueur, exiger d'aide et de ne nécessiter qu'un matériel peu coûteux et très sommaire.

Mais, je ne saurai trop le répéter, pour réussir, aussi bien avec ce procédé qu'avec les autres, il est absolument indispensable d'observer strictement et à la lettre les moindres règles de la technique et de ne s'en départir sous aucun prétexte au moins dans les commencements ; plus tard chaque opérateur pourra apporter des modifications qui lui paraîtront bonnes et, une fois exercé, réussir pleinement.

En analyse bactériologique basée sur les cultures, il n'y a ni bonnes ni mauvaises méthodes il n'y a que de bons ou de mauvais opérateurs.

Procédés approximatifs de Miquel. — Sous ce nom le savant microbiologiste de Montsouris décrit deux séries d'opérations qui, dit-il, ne peuvent guère être qu'approximatives, mais qui ont le mérite d'être relativement simples et des plus ingénieuses.

Dès l'année 1884 Miquel eut l'idée d'employer, pour enregistrer en quelque sorte les germes atmosphériques au moyen d'un appareil qu'il appela *aéroscope enregistreur*[1], un papier nutritif imprégné de gelée de lichen, pouvant, une fois les colonies développées, se colorer au bleu d'indigo dans les points seulement où ces colo-

[1] Miquel, *Annuaire de Montsouris*, pour 1885, p. 592, fig. 24.

nies existent. Ce procédé appliqué aux germes aériens que nous n'avons pas à étudier ici, il l'utilisa ensuite pour l'analyse bactériologique des eaux. C'est à ce seul point de vue que je dois l'examiner dans cet ouvrage et le présenter au lecteur.

Voyons tout d'abord comment doit être préparé[1] le papier nutritif, ce qui, on va le voir, ne laisse pas que d'être assez compliqué.

On choisit un papier fort, flexible, à grains très fins, ou mieux laminé comme le beau bristol; on l'enduit sur ses deux faces de plusieurs couches du vernis suivant :

Alcool éthylique pur à 90°	1000 grammes.
Gomme laque blanche.	100 —

qui a macéré pendant huit jours, en étant agité de temps à autre, et qui a été filtré.

Une fois vernie et sèche, la feuille de papier est placée sur une feuille épaisse de carton d'amiante ou sur une planche de bois bien unie et horizontale en ayant soin que les bords en soient relevés verticalement d'environ 1 centimètre, puis on y verse la gelée chaude fondue, tenue dans une capsule en porcelaine à manche et à bec, en faisant parcourir au jet du liquide un chemin qui accélère l'égale répartition de la gelée sur toute la surface du papier et en ayant soin qu'aucune bulle d'air ne reste interposée. La couche se refroidit alors très rapidement et se solidifie ; elle doit avoir une épaisseur de 3 à 4 millimètres, mais pas davantage. Pour activer sa dessication, on place le papier nutritif dans une étuve

[1] Miquel, *Id.* pour 1886, p. 519 et suivantes,

bien ventilée à 35° pendant cinq à six heures. Pour l'analyse des eaux ce papier doit être enduit de gelée sur les deux faces, ce que l'on obtient facilement en se servant d'un double cadre de bois qui pince, au moyen de quatre vis de pression, le bristol sur tout son pourtour.

Pour préparer maintenant la gelée de lichen, ou bien on emploie 25 grammes de lichen carragahen et 10 grammes de gélose[1] ou seulement 50 grammes de lichen blanc *(fucus crispus)* par litre[2]. On les fait macérer pendant plusieurs heures dans du bouillon de bœuf ou du bouillon de peptone filtré et chauffé vers son point d'ébullition en ayant soin d'enfermer le végétal dans un sachet de toile fine. Une fois la coction achevée, on obtient un liquide filant qui est filtré à chaud à travers une étamine ou une bourre de coton hydrophile et qui, malgré cette filtration, reste un peu opalescent et louche, ce qui ne présente, au reste, aucun inconvénient.

Nous pouvons aborder maintenant l'étude des deux procédés approximatifs décrits par Miquel.

Premier procédé. — On introduit dans une série de ballons bitubulés de 100 centimètres cubes de capacité[3], 30 à 40 centimètres cubes de gelée de lichen peptonisée et on stérilise à l'autoclave. On stérilise, d'autre part, soit au bain d'air, soit dans la vapeur sèche, un système formé d'une cloche tubulée, à capuchon rodé surmonté d'une cheminée analogue à celle des ballons Pasteur[4].

[1] Miquel, *Ann. Obs. Montsouris*, p. 522, 1885.
[2] Miquel, *Id.* 1890, p. 417.
[3] Voir la figure 62, p. 415 de l'*Annuaire* de 1890.
[4] Voir la figure 63, p. 416 de l'*Annuaire* de 1890.

Cette cloche s'applique très exactement sur une plaque de verre usée à l'émeri, supportant une lame de verre très épaisse soutenant elle-même une feuille de papier bristol carrée ou ronde, à bords relevés comme il a été dit.

Au moment où on désire effectuer l'analyse, la gelée de lichen est fondue au bain-marie à 48°, puis versée par les tubulures de la cloche sur le papier bristol ; au même instant on ajoute à cette gelée l'eau à essayer, en répartissant aussi régulièrement que possible cette eau à la surface de la gelée à laquelle on imprime même quelques mouvements de va-et-vient. Une fois la solidification obtenue, l'appareil est placé et laissé à l'étuve à 30° pendant quinze à vingt jours.

Au bout de ce temps, le papier enlevé de sous la cloche est rapidement séché dans une étuve à courant d'air chaud et sec, ou à froid dans le vide. Il ne reste plus, alors, qu'à colorer les colonies développées sur le papier, comme cela va être bientôt indiqué, et à les compter.

Second procédé[1]. — Il est infiniment plus simple et plus élégant peut-être que le précédent ; en tous cas, il ne nécessite pas d'appareils spéciaux. Il repose essentiellement sur la faculté que possède la gelée de lichen d'absorber promptement un volume d'eau considérable après qu'elle a été desséchée en lames minces sur une feuille de papier, et de récupérer ainsi ses propriétés nutritives.

Le papier nutritif, préparé comme il a été dit, est taillé en rectangle, muni d'un fil suspenseur en platine,

[1] Miquel, *Annuaire de l'Observatoire de Montsouris* p. 417, 1890.

enveloppé de papier joseph et introduit dans un autoclave où, pendant une heure, on le chauffe à 110° ; il sort de là absolument sec et privé de tout germe.

Au moment de l'analyse, on le suspend par le fil de platine, dans une éprouvette bouchée à l'émeri ; on le tare très exactement et on le plonge dans l'eau à doser ; immédiatement la gelée s'imbibe et gonfle, et cela si rapidement que, au bout de cinq minutes, l'opération est terminée. On pratique alors une seconde pesée qui fait connaître le poids de l'eau absorbée, et on place le tout à l'étuve dans une chambre humide.

Le papier, au bout d'une quinzaine de jours, est retiré et coloré au bleu d'indigo qui va déceler toutes les colonies qui se sont développées.

Pour opérer cette coloration, on commence par bien dessécher le papier chargé de colonies microphytiques, dans une étuve à 45° ; on le plonge ensuite pendant quelques minutes dans une solution aqueuse d'alun cristallisé, puis dans de l'eau ordinaire ; on insolubilise légèrement, par ce moyen, la gelée, et on mordance les surfaces à colorer.

On a préparé, d'autre part, un bain colorant de la façon suivante : 2 grammes d'indigotine cristallisée ont digéré pendant vingt-quatre heures avec 40 à 50 grammes d'acide sulfurique fumant de Saxe, puis on ajoute à ce mélange un litre d'eau ; on obtient ainsi une liqueur très acide qu'il faut neutraliser en partie.

On plonge alors dans ce bain le papier bien lavé et on ne tarde pas à voir les colonies se colorer beaucoup plus vivement que le reste de la gelée, jusqu'à prendre une teinte noire qu'il faut, au reste, obtenir.

A ce moment, tout le papier est coloré bien qu'inéga-

lement, et il faut arriver à ne couserver la teinte bleue qu'aux colonies de microorganismes. Pour obtenir un semblable résultat, on lave à l'eau, puis on place la feuille dans un nouveau bain de solution de permanganate de potasse à 1 pour 1000, pendant une demi-minute environ; on constate alors que, de bleue, la gelée est devenue violette, puis rose; on lave encore à l'eau, on soumet le papier à l'action d'une solution faible d'acide oxalique (3 à 5 pour 100), on relave à l'eau et on finit par avoir les colonies de bactéries et de moisissures développées sur le papier nutritif, tranchant en une belle couleur bleue sur le fond blanc du papier. L'intensité de la couleur augmente encore par la dessication. On obtient, de cette façon, les très jolies feuilles qu'a reproduites Miquel dans l'*Annuaire de Montsouris* pour 1886 (pages 526, 527, 528 et 529).

C'est à la suite d'un très grand nombre d'essais, et après beaucoup de tâtonnements, que Miquel a fixé son choix sur l'indigo de préférence aux couleurs d'aniline qui, on le sait, s'altèrent très rapidement sous l'influence de la lumière du soleil; l'indigo, au contraire, ou plutôt l'acide sulfindigotique qui agit ici a, d'une part, une très grande affinité pour les microphytes, bien supérieure à celle qu'elle a pour la gelée de lichen (c'est sur cette différence qu'est basé le procédé), et, d'autre part, il résiste pendant des siècles à l'action de la lumière, l'indigo étant la couleur végétale la plus fixe que l'on connaisse.

CHAPITRE VII

ANALYSE QUALITATIVE

Desiderata. — Difficultés et complexité de l'analyse microbiologique qualitative. — Comment on doit s'y prendre pour déterminer spécifiquement une colonie microbienne de l'eau. — Diagnose des espèces révélées par l'analyse quantitative : dans les liquides, sur les solides. — Examen microscopique direct, après coloration. — Cultures sur des milieux nutritifs variés. — Emploi de divers réactifs. — Moyens à employer pour rechercher les espèces bactériennes non décelées par l'analyse quantitative. — Résistance de chaque espèce aux diverses températures et son utilisation comme moyen de diagnose. — Action séparatrice des antiseptiques. — Essai de technique générale.

La plus grande partie de ce livre vient d'être consacrée à l'étude détaillée des différents procédés de l'*analyse microbiologique quantitative* des eaux, et cependant, combien plus importante, plus utile, mais aussi plus compliquée est l'*analyse qualitative !*

La première, suivant l'expression sévère, mais juste, en somme, de Miquel, peut être l'œuvre d'un *bon garçon de laboratoire*[1]; la seconde demande, pour être menée à bien, les connaissances les plus variées, non-seulement en Microbie proprement dite, mais encore en chimie, en physiologie et en médecine. Un technicien

[1] Miquel, *Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux*, p. 91, 1891.

habile peut arriver rapidement à isoler et à dénombrer très exactement les germes de l'eau ; il faut un *véritable savant* pour en étudier tous les caractères d'ordre biologique et morphologique, et émettre sur la qualité réelle d'une eau une opinion réellement scientifique et justifiée.

Malheureusement, malgré les efforts considérables qui ont été tentés de toute part, depuis plusieurs années, malgré la conviction intime que partagent aujourd'hui tous les bactériologues, comme les chimistes, les hygiénistes et les médecins, que l'analyse microbiologique qualitative présente seule des garanties indiscutables de précision et peut seule aussi permettre d'affirmer l'innocuité ou la nocivité d'une eau potable, nous en sommes encore à attendre le livre qui pourra lui être exclusivement consacré.

Il arrivera sûrement et peut-être à brève échéance, mais il est nécessaire pour cela que la Microbie générale, et notamment la systématisation des bactéries ait fait des progrès qui sont prévus assurément, mais qui sont loin d'être réalisés encore.

Le jour où chaque espèce microbienne aura sa monographie faite, où l'on connaîtra non seulement ses formes, ses aspects sur les différents milieux de culture, mais encore ses modes divers de réaction vis-à-vis les agents physiques : chaleur, lumière, électricité, ou chimiques : fermentations d'ordre varié, phénomènes d'hydratation, de dédoublement, production de diastases ou de substances toxiques, etc., etc., ce jour-là il deviendra possible de formuler des règles précises et systématiques sur la conduite des différentes et successives opérations auxquelles il faudra avoir recours pour dé-

terminer d'abord l'espèce de chaque colonie microbienne et ensuite le rôle réel qu'elle est appelée à jouer dans l'eau, puis dans l'organisme humain. Ces renseignements, nous les possédons évidemment pour quelques espèces, mais ils ne sont pas encore assez nombreux, ni assez généraux pour qu'on puisse bâtir sur eux un corps de doctrine, encore moins une méthode technique d'analyse.

Il serait à désirer que, dans les laboratoires de Microbie, un certain nombre de travailleurs prissent à tâche d'écrire la monographie de chaque espèce microbienne, en prenant comme modèle les travaux de M. Charrin sur le bacille pyocanogène et mieux encore au point de vue de l'histoire naturelle pure, la remarquable étude de M. W. Vignal[1] sur le *Bacillus mesentericus vulgatus*, qui peut être regardée comme le type de ce genre de recherches.

Peu à peu s'élèverait, pour le plus grand profit de tous, naturalistes, microbiologistes, hygiénistes, médecins, chimistes, industriels même peut-être, un véritable monument qui constituerait une flore bactérienne sans rivale aucune, dans laquelle les intéressés pourraient puiser avec facilité.

Au lieu de cela, nous sommes, à l'heure qu'il est, obligés de glaner çà et là des indications incomplètes, et d'en faire l'application à quelques cas particuliers, bien heureux encore si nous ne voyons pas, au fur et à mesure des découvertes récentes, les faits considérés jusqu'alors comme entièrement acquis et indiscutables, être démolis ou fortement ébranlés !

[1] W. Vignal, *Contribution à l'étude des bactériacées « le Bacillus mesentericus vulgatus »* Th. facul. sc , Paris, 1889.

Voyez ce qui s'est passé pour le bacille de la fièvre typhoïde ; il y a cinq ou six ans, il possédait des caractères morphologiques parfaitement nets et tranchés, on ne pouvait le confondre avec aucun autre, et lorsqu'il existait dans l'eau, c'était presque un enfantillage que de l'y découvrir. Aujourd'hui, son identité, son existence même, sont fortement battues en brèche et contestées ; les bacilles pseudo-typhiques, *similtifo*, comme les appellent les Italiens, augmentent en nombre chaque jour, ne différant les uns des autres que par des caractères difficilement appréciables ou d'une importance très discutable.

La facilité avec laquelle on décelait, dans les premiers temps, le bacille d'Eberth dans l'eau, a fait place à des difficultés telles que, la plupart des bactériologues ont peine, maintenant, à le rencontrer, même dans les eaux les plus légitimement suspectes, ou sont obligés d'avoir recours à des artifices de technique que nous étudierons bientôt.

Sans parler des nombreuses maladies qui, à coup sûr, sont d'origine bactérienne, mais dont le microbe n'a pas encore été isolé, comme la variole, la scarlatine, la rougeole, la coqueluche, le rhumatisme articulaire aigu, etc., il en est beaucoup d'autres dont les microorganismes ne se développent sur un substratum artificiel que dans des conditions très étroites de composition chimique, de température, etc., comme, par exemple, celui de la tuberculose ; évidemment, les méthodes générales de dissociation adoptées actuellement ne peuvent leur être appliquées, et il nous faut, si nous voulons ou devons absolument les mettre en évidence, avoir recours à des moyens détournés qui sont longs et compliqués. Et il

ne faudrait pas croire qu'au point de vue de savoir si oui ou non une eau est bonne ou nocive, les microbes dits pathogènes nous intéressent seuls. Il en existe d'autres infiniment plus nombreux et plus répandus dans la nature qui, inoculés aux animaux, demeurent inoffensifs, lesquels cependant, par leurs propriétés biochimiques, sont capables de produire, dans les eaux ou dans le tube digestif, des altérations qui peuvent être nuisibles.

En un mot, l'*analyse microbiologique qualitative* des eaux telle que nous la comprenons, telle que nous la pressentons, est ou plutôt sera une opération des plus longues, des plus délicates et des plus difficiles, à moins, tout est possible, que dans un avenir plus ou moins lointain, les bactériologues n'aient découvert des méthodes analogues à celles des chimistes, qu'il sera loisible de suivre à la lettre ou de modifier suivant les besoins.

Dans l'état actuel de nos connaissances ces méthodes n'existent pas et force nous est, d'une part, de suivre pour arriver à la détermination de chaque espèce de bactéries les règles générales actuellement en honneur parmi les microbiologistes, et de nous servir, d'autre part, de quelques procédés spéciaux qui ont été préconisés pour certaines espèces, particulièrement des espèces pathogènes.

Vouloir énoncer, même de façon sommaire, les règles générales de la technique bactérioscopique serait très long.

On trouvera dans le livre du professeur Macé, de Nancy, exposées avec détail, les opérations que je ne peux que signaler ici ; j'y renvoie donc le lecteur ainsi qu'aux différents ouvrages que j'ai énumérés à la page 46.

Il n'en sera pas de même des procédés spéciaux concernant quelques microbes pathogènes, notamment le bacille d'Eberth ; j'ai pensé être utile au débutant en colligeant ces procédés et en les présentant ensemble au lecteur.

Comme neuf fois sur dix c'est le bacille de la fièvre typhoïde que l'on demande à l'analyste de rechercher dans une eau de boisson, il était bon d'insister sur les moyens qui favorisent sa mise en évidence.

Je diviserai donc ce chapitre consacré à l'*analyse qualitative* en deux grands paragraphes.

Dans le premier, je me préoccuperai des diverses manipulations que nécessite la diagnose d'une espèce quelconque, et, sauf quelques généralités que je ne ferai qu'effleurer, ce sont des *desiderata* que j'aurai à formuler plutôt que des faits acquis et des règles précises à signaler.

Dans le second paragraphe, au contraire, j'exposerai ce qui a jusqu'à ce jour été tenté pour arriver à la mise en évidence de telle ou telle espèce dont on recherche particulièrement l'existence et je décrirai des *modes d'opérer* que chacun pourra suivre et contrôler.

A. *Comment on doit s'y prendre pour déterminer spécifiquement une colonie microbienne de l'eau.* — Il faut bien savoir tout d'abord que, quels que soient les milieux nutritifs utilisés : bouillon ou gélatine, toutes les bactéries sans exception existant dans l'eau à analyser ne sont pas mises en évidence, soit que le terrain ne convienne pas au développement de certaines d'entre elles, soit que la température uniforme à laquelle toutes sont exposées ne permette pas à quelques-unes de germer, soit enfin, ce qui doit être assez fréquent, que

certaines espèces ne se trouvent pas présentes dans la très petite quantité d'eau ensemencée d'ordinaire (1 à 2 centimètres cubes tout au plus.)

Il est bon d'être renseigné d'avance sur ces très réelles imperfections des méthodes générales pour ne pas se trouver exposé à faire à une demande qui vous est posée une réponse trop absolue ou incomplète.

Nous allons considérer successivement les deux cas suivants :

1° diagnose des espèces révélées par l'analyse quantitative ;

2° moyens à employer pour rechercher les espèces qui auraient pu passer inaperçues dans ce premier genre d'analyse.

1° *Diagnose des espèces révélées par l'analyse quantitative.*

Notre *modus operandi* sera quelque peu variable suivant que nous nous serons servis des milieux liquides ou des substrata solides.

a) Analyse pratiquée dans les liquides. — Dans le premier cas, nous rassemblerons tout d'abord toutes les conserves de bouillon d'une même analyse qui, au bout de 15 jours, mises à l'étuve à 35°-37° centigrades, se seront troublées, et nous constaterons pour chacune d'elles, après avoir apposé une étiquette portant un numéro d'ordre ou une indication quelconque, l'aspect macroscopique et la nature du trouble. Celui-ci est-il général ou localisé ? quelle est sa teinte ? y a-t-il oui ou non fluorescence ? existe-t-il en suspension dans le bouillon des grumeaux, des flocons ou de fines membranes ? s'est-il formé un dépôt de fond et de quelle couleur ? ou bien au contraire la surface du liquide est-elle recou-

verte d'une pellicule, voile ou mycoderme? quels sont dans ce dernier cas son aspect extérieur, son épaisseur, sa coloration, l'état de sa surface?

Bref, toutes les observations, même les plus minimes, que pourra suggérer cet examen macroscopique préalable de l'état de la culture dans le bouillon devront être soigneusement relevées et notées sur un registre *ad hoc* en face du numéro d'ordre de chaque conserve.

Ceci fait, chaque ballon sera soigneusement débouché dans la flamme d'une lampe à alcool ou d'un bec Bunsen, en ayant soin de le maintenir constamment dans une position aussi oblique que possible de manière à éviter la chute des poussières atmosphériques. En même temps, au moyen d'une pipette stérilisée longuement effilée, courbée à angle droit au niveau de la base de son effilure, on aspire dans le récipient, après l'avoir agité pour bien mélanger les germes ou au contraire parfois sans agitation préalable, quelques gouttes de la culture qui vont servir à une série de nouvelles constatations.

Je recommande d'en aspirer une assez grande quantité pour que, le flacon ayant été rebouché avec toutes les précautions d'usage, il ne soit pas nécessaire de l'ouvrir de sitôt pour un nouvel examen ; la pipette qui contient un nombre suffisant de gouttes peut en effet être scellée et mise en réserve pour des observations ultérieures.

Aussitôt ce puisage effectué, une goutte de la culture est déposée sur une lame porte-objet rigoureusement propre, et recouverte immédiatement d'une lamelle couvre-objet flambée, afin de pouvoir faire un examen microscopique immédiat des microorganismes à l'état vi-

vant, examen qui nous renseignera sur leurs formes, leurs dimensions relatives, leur état de mobilité ou d'immobilité; une autre goutte, placée sur une nouvelle lame, y sera lentement desséchée puis soumise à la caléfaction pour être plus tard colorée par les couleurs basiques d'aniline; (afin d'étudier l'action de plusieurs couleurs ou de différents procédés de coloration il sera toujours bon de préparer de cette façon 4 ou 5 lames porte-objets). On laisse enfin tomber quelques gouttes encore sur de petits carrés de papier tournesol bleu ou rouge de façon à être immédiatement renseigné sur les changements qui ont pu s'opérer dans la réaction du bouillon de culture qui d'ordinaire était au début, avant l'ensemencement, neutre ou très légèrement alcalin.

Les résultats de ces multiples observations sont eux aussi, bien entendu, immédiatement consignés sur le registre, de sorte qu'au bout de quelques minutes nous avons déjà acquis de précieux renseignements sur la forme, le degré de mobilité, l'aptitude colorante du microbe considéré et nous savons dans quel sens il a modifié la réaction de son milieu de culture.

Les examens microscopiques, j'ai à peine besoin de le rappeler ici, doivent être pratiqués à un assez fort grossissement (Obj. 7 ou 8 de Verick par exemple, Ocul. 2 ou 3). Souvent même l'emploi des objectifs à immersion homogène à eau ou à huile devient ici nécessaire.

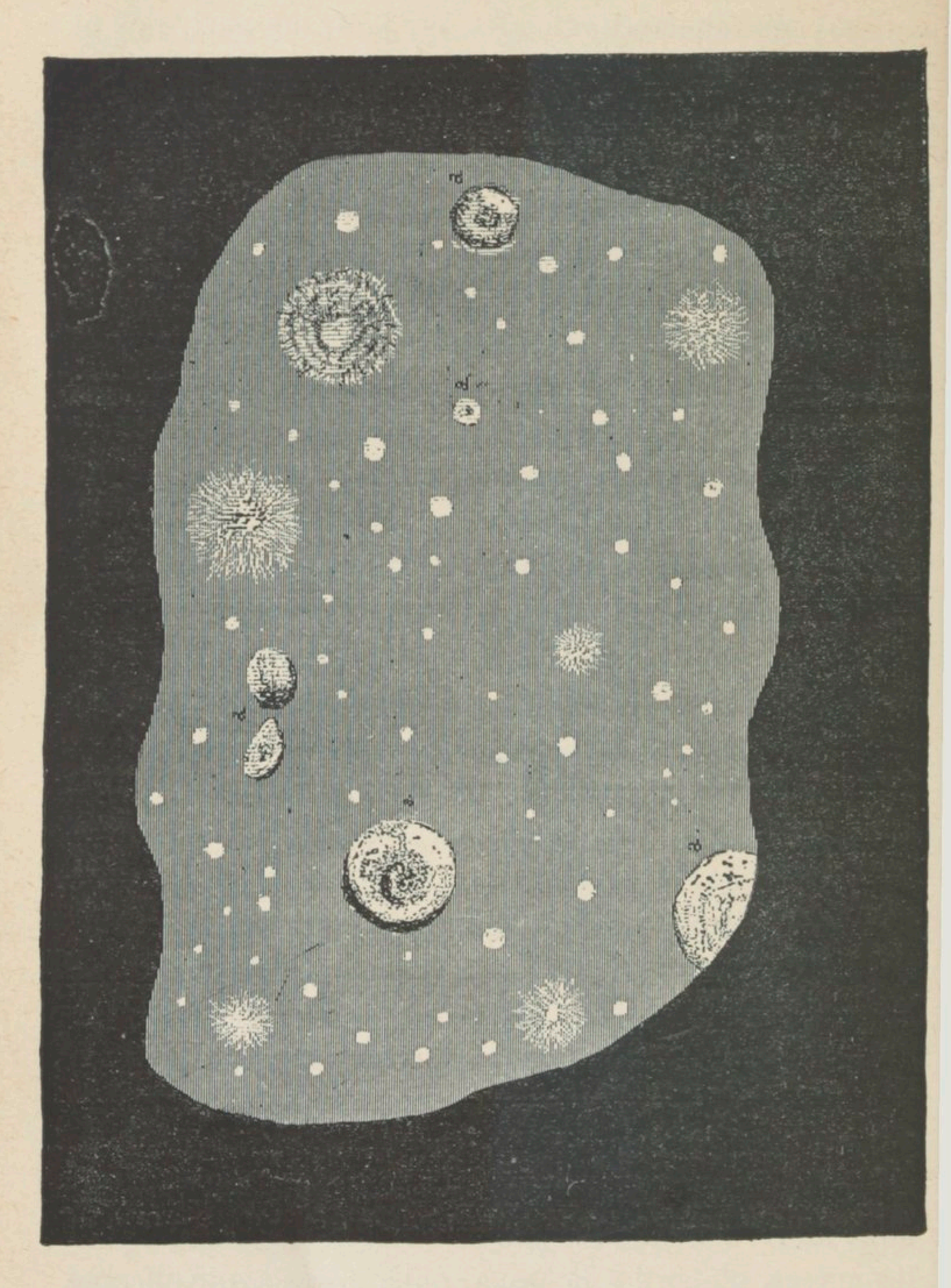
Cet examen microscopique immédiat peut parfois nous faire reconnaître, dès l'abord, l'impureté d'une conserve en nous démontrant que deux et quelquefois même trois espèces de bactéries y coexistent. Il ne faudrait pas cependant se trop tôt hâter de conclure à un ensemencement mixte, parce qu'on observe côte à côte des microco-

ques et des bacilles, des bacilles et des spirilles, certaines espèces microbiennes, en effet, et, pour ma part, j'en ai rencontré une dans les eaux de la Saône qui était remarquable à ce point de vue, peuvent dans le même milieu nutritif et dans les mêmes conditions de température, présenter les formes et les dimensions les plus extrêmes et les plus variées.

Il est alors indispensable, pour lever tous les doutes, d'avoir recours au procédé général des plaques de Koch ou tout au moins à sa modification indiquée par Esmarch.

Une très fine gouttelette du bouillon suspect est introduite dans un tube de gélatine peptone liquéfiée à une douce chaleur et intimement mélangée avec elle. Une fois ce mélange opéré, on en prend, avec une pipette neuve, une goutte qui est transportée dans un second tube qui servira lui-même à en ensemencer un troisième de la même façon ; puis la gélatine est répartie sur des plaques (Koch) ou enroulée en couche mince à l'intérieur de chaque tube (Esmarch). Au bout de quelques jours de séjour à la température de la chambre ou à celle d'une étuve réglée à 18-22° centigrades, des colonies apparaissent çà et là à la surface ou dans la profondeur de la gélatine, trop serrées, en général, les unes contre les autres pour pouvoir être utilisées sur la plaque ou dans le tube n° 1, suffisamment espacées, au contraire, et convenablement développées sur les plaques ou dans les tubes 2 et 3 (fig. 31) ; on les examine alors, avec la plus grande attention. les unes après les autres, d'abord à la loupe, puis, après avoir effectué au moyen du fil de platine une prise convenable, au microscope, et l'on constate si oui ou non elles appar-

tiennent toutes à la même espèce bactérienne, ou si, au



contraire, elles sont le résultat de la pullulation d'individus spécifiquement différents les uns des autres.

On profite, en tout cas, de cette première opération de culture dans un milieu autre que le bouillon pour noter l'aspect spécial que prend la colonie sur la gélatine étalée en plaques. J'insisterai à propos de la seconde catégorie d'analyses (sur milieux solides) sur les caractères extrêmement importants qui sont ainsi décelés. Comme, du reste, à partir de ce moment, la série d'opérations auxquelles il nous faudra recourir, pour établir la diagnose définitive de chaque espèce, devient commune, quelle que soit la méthode d'analyse choisie : dans les liquides ou sur les solides, nous allons laisser de côté ce qui a trait à l'examen des bouillons, pour nous préoccuper exclusivement de celui des colonies développées sur gélatine, en stipulant toutefois bien ceci : que pour toutes les cultures sur milieux variés que nous allons passer en revue, on agira avec chaque conserve de bouillon comme nous l'allons faire avec chaque colonie de la gélatine.

J'ajoute, enfin, qu'avant de sacrifier définitivement les ballons de bouillon il sera bon de se rendre compte, par l'odorat, des odeurs plus ou moins fortes ou particulières que ceux-ci peuvent présenter, et rechercher encore une fois si la réaction est alcaline ou acide, celle-ci pouvant, en effet, varier dans l'espace de quelques jours dans certaines cultures.

b) Analyses pratiquées sur les solides. — Il est extrêmement utile, ici, de suivre jour par jour, à partir du moment où elle s'est manifestée sous forme de point, chaque colonie microbienne qui, à l'œil nu ou à un faible grossissement, présentera des allures très variées et très intéressantes, suivant qu'elle est encore enfouie dans la profondeur de la gélatine ou qu'elle s'est déve-

loppée à sa surface, et aussi suivant son âge. Sa forme générale, ses dimensions, l'état de ses bords et de sa surface, sa couleur, la coloration que peût prendre la gélatine tout autour d'elle, et notamment la présence ou l'absence de fluorescence, la liquéfaction enfin du substratum et la façon dont elle se produit : hâtive ou tardive, étendue ou limitée, très circonscrite ou diffuse, voilà autant de caractères de premier ordre qu'il ne faut pas manquer d'enregistrer avec le plus grand soin, et cela, je le répète, jour par jour, ou tout au moins tous les deux ou trois jours.

Afin de ne point m'exposer à commettre des erreurs, dans le cas où j'ai à examiner, en même temps, un très grand nombre de colonies, j'affecte à chacune d'elles un numéro ou un signe conventionnel que j'inscris à leur niveau sur la face extérieure des tubes dont je me sers au moyen d'encre à l'aniline, que j'enlève avec un peu d'eau ou d'alcool au moment de chaque examen pour ne pas gêner celui-ci, et que je replace aussitôt mes constatations terminées. De cette manière, aucune confusion n'est possible et la perte de temps est insignifiante. Pour pratiquer les examens qui nécessitent un faible grossissement, je me sers, avec grand avantage, comme je l'ai déjà dit à propos de la numération, d'un objectif 0,1 ou 2 de Verick, que je tiens à une très faible distance de la paroi du tube ou que j'applique même sur elle, suivant la profondeur à laquelle est placée la colonie ou l'épaisseur de la couche de gélatine; j'obtiens ainsi une grande netteté de l'image que l'on n'a pas habituellement avec les loupes ordinaires.

Lorsque la série de ces premières constatations d'ordre macroscopique est épuisée, je passe à l'examen mi-

croscopique qui est plus ou moins hâtif, suivant que le tube renferme ou non des colonies liquéfiantes ; lorsque celles-ci existent, on risquerait, en tardant trop, de voir le substratum se fluidifier dans sa totalité et toutes les colonies être perdues en se mélangeant les unes avec les autres.

Pour pratiquer l'examen microscopique, comme au reste les ensemencements sur des milieux variés dont il va être bientôt question, on emploie : soit le fil de platine légèrement recourbé à son extrémité libre ou formant une boucle complète (*öse* des Allemands) et flambé au moment de l'usage, puis suffisamment refroidi, soit une pipette longuement effilée dont on courbe très légèrement la pointe dans la flamme d'un bec Bunsen (cette dernière doit être particulièrement utilisée pour le *pêchage* des flocons de certaines colonies liquéfiantes). On cueille ainsi, dans le centre même de chaque colonie, une fine parcelle de celle-ci et on la transporte sur des lames porte-objets très propres et flambées. Durant le temps très court que dure cette petite opération, toutes les précautions d'usage doivent être prises pour éviter la contamination par les germes atmosphériques, ce à quoi on arrive dans le procédé que je préconise en tenant le tube très oblique ou horizontal, s'il existe des colonies liquéfiantes qu'on ne veut pas voir se répandre sur leurs voisines, ou même tout à fait vertical, l'extrémité ouverte tournée en bas, si ces dernières font défaut.

L'examen microscopique proprement dit se fait ici comme pour les bouillons, sauf qu'il est parfois nécessaire, pour l'examen immédiat des microbes vivants, de délayer la parcelle de la colonie dans une petite goutte

d'eau stérilisée ou de solution colorante aqueuse faible ; cette dernière ne nuit en général pas à la vitalité des bactéries qui conservent même leurs mouvements et elle favorise singulièrement la mise au point et leur constatation en les colorant légèrement ; il va de soi qu'une solution analogue, un peu plus forte même, peut aussi, dans le même but, être ajoutée aux bouillons de culture.

Sur les préparations desséchées et soumises à la caléfaction, on fait agir les différentes couleurs basiques d'aniline en solutions hydro-alcooliques, et on constate notamment de quelle façon se comporte chaque bactérie examinée vis-à-vis la méthode de Gram (action de l'alcool sur les préparations colorées après séjour dans le liquide iodo-ioduré).

On procède ensuite à l'ensemencement de chaque colonie initiale, prise sur plaque, sur une série de milieux nutritifs dont les principaux sont d'ordinaire : le bouillon peptonisé de Lœffler, la gélose, le sérum sanguin, la gélatine peptone, en piqûre et en strie (fig. 32 et 33) la pomme de terre, auxquels on peut adjoindre dans certains cas particuliers : l'urine, le lait, les *substrata* liquides ou solides faits avec le touraillon (résidu de l'orge germé) etc., etc.

Ces milieux nutritifs peuvent naturellement varier presque à l'infini au gré de chaque observateur, mais ceux que je viens d'énumérer sont les plus constamment employés et, je pourrai dire, les plus classiques.

Le temps au bout duquel la culture a apparu sur chacun de ces *substrata,* la température à laquelle elle s'est développée, l'aspect qu'y prennent les colonies, la forme et autres caractères morphologiques qu'y acquiè-

rent les microbes doivent, eux aussi, être enregistrés avec soin et ce n'est souvent pas trop de toutes ces

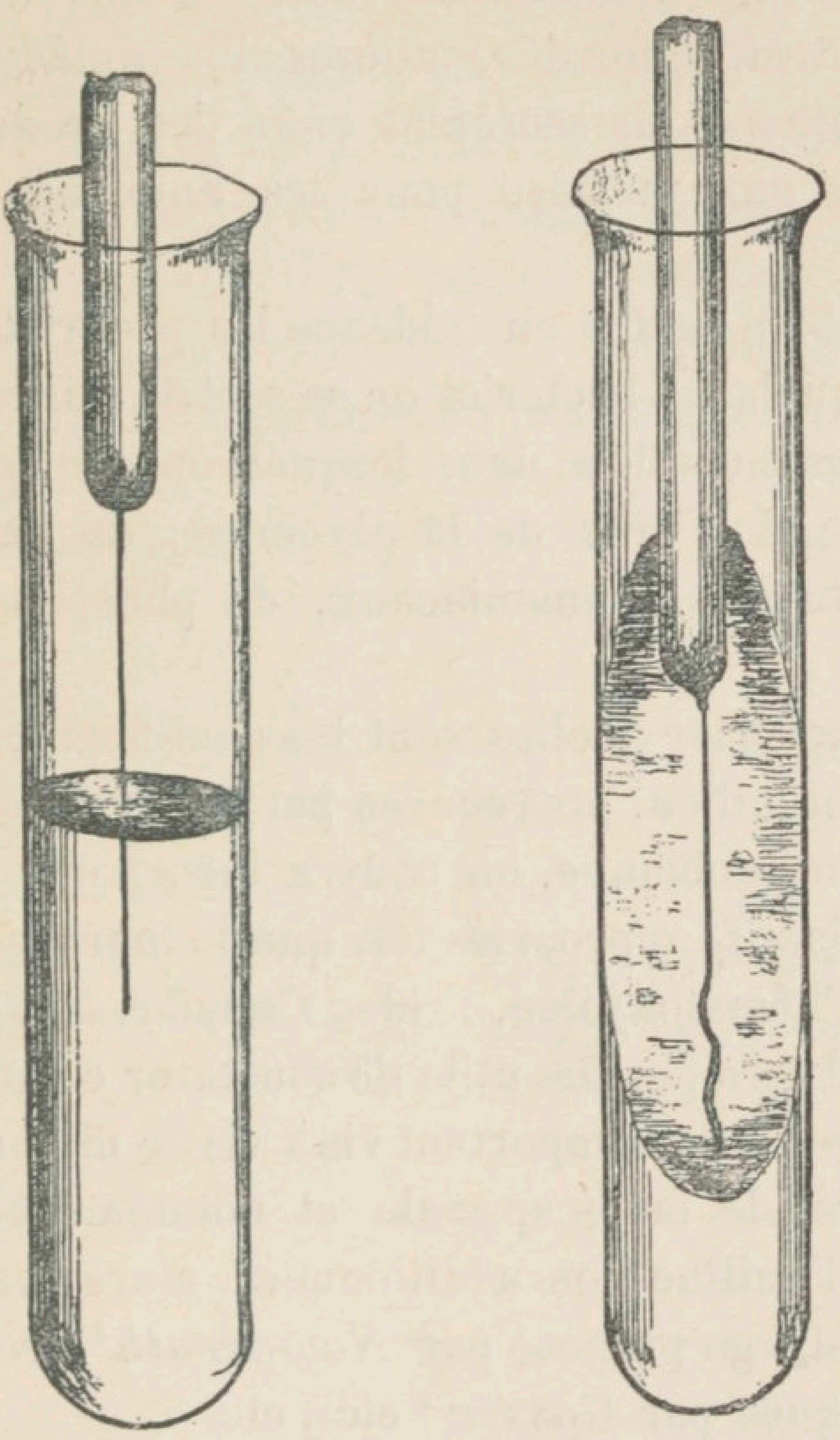


Fig. 32. — Inoculation en piqûre. Fig. 33. — Inoculation en strie.

indications réunies pour permettre au bactériologue d'arriver enfin à une diagnose exacte pour les espèces déjà connues et décrites.

Elles ne suffisent même pas toujours et il est encore nécessaire parfois de s'enquérir de quelle façon se comportent certains microorganismes vis à vis des liquides

de composition chimique parfaitement déterminée, voir notamment s'ils agissent à la façon d'un ferment alcoolique, lactique, ammoniacal, etc., s'ils jouent un rôle dans la putréfaction des matières albuminoïdes ou dans leur digestion, s'ils sécrètent enfin des produits toxiques pour eux-mêmes, pour les animaux ou pour l'homme.

Afin de bien mettre en évidence les propriétés de ferments de quelques bactéries on se sert de milieux nutritifs liquides ou solides dans lesquels on incorpore de la saccharose, de l'urée, de la glycérine, de l'alcool, du soufre, des sels ammoniacaux, du phosphore amorphe, etc.

Pour apprécier quelles sont les modifications dans la réaction du milieu, provoquées par le développement de la colonie microbienne, on pourra incorporer à ce milieu des réactifs appropriés tels que le tournesol, la cochenille, l'hématoxyline, le bleu Coupier, etc.

Enfin, il sera parfois utile de constater comment certains microbes se comportent vis à vis de milieux de culture colorés de façon spéciale et notamment avec les couleurs d'aniline ; on additionnera alors ces milieux avec le mélange proposé par *Nœggerath*[1], avec la fuschine indiquée par *Gasser*[2] etc., etc.

Quant aux produits solubles on se les procurera en bloc, grossièrement, avant de recourir aux procédés délicats de la chimie microbiologique, soit en chauffant les cultures à haute température (ptomaïnes) soit en les filtrant à travers une bougie Chamberland au moyen

[1] Nœggerath, *Forschritte der medicin*, VI, p. 1, 1888.
[2] Gasser, Culture du bacille typhique sur milieux nutritifs colorés (*Arch. de méd. expérim.*, II, p. 750, 1890.

du filtre dit de voyage, (diastases, toxalbulmines) et en les inoculant ensuite à doses variables à diverses espèces animales ou en ensemençant à nouveau un bouillon de culture déjà fertilisé par la même espèce.

J'avais raison de dire, on le voit, que l'analyste bactériologue mis aux prises avec une analyse qualitative devait connaître à fond les moindres détails de la Microbie générale et même faire œuvre, le cas échéant, de chimiste, de physiologiste et de pathologiste.

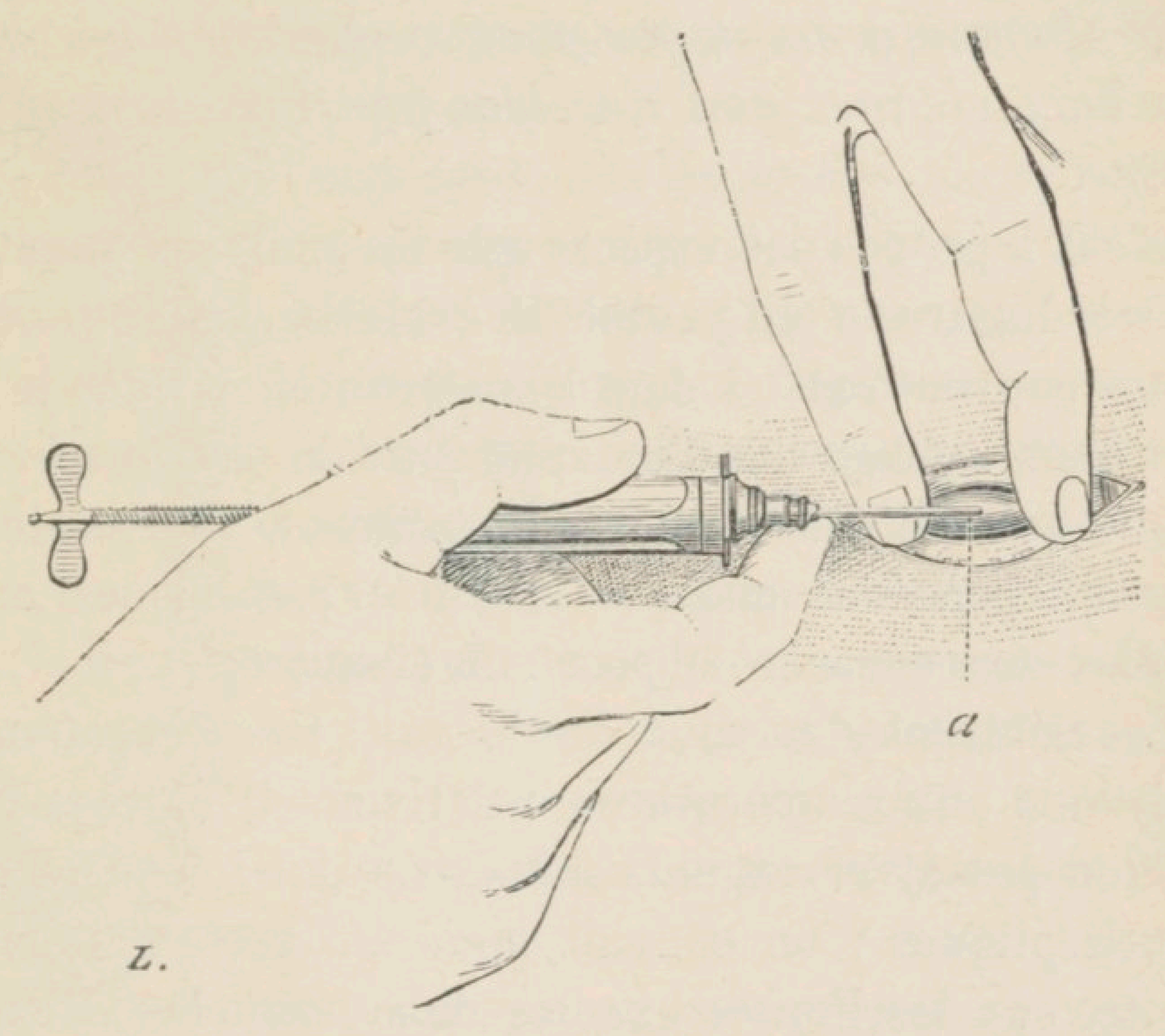


Fig. 34. — Injection intra-veineuse avec une seringue à petite canule acérée *a*.

On ne connaîtra même bien la nature réelle de chaque bactérie isolée des eaux que si l'on a, avec ses cultures, épuisé tous les modes d'expérimentation sur les animaux les plus divers par voie intra-veineuse, sous-

cutanée, péritonéale, intra-pulmonaire, etc.[1]. — La figure 34 donne une idée de la façon dont on pratique les injections intra-veineuses.

Bien entendu, ces dernières opérations sont inutiles lorsqu'on se trouve en face d'espèces saprogènes parfaitement déterminées, mais on risque souvent, lorsqu'on pratique de nombreuses analyses, de rencontrer certains microorganismes non encore décrits ou peu connus, au sujet desquels aucune source d'informations ne doit être négligée.

2° *Moyens à employer pour rechercher les espèces bactériennes non décelées par l'analyse qualitative.*

C'est à propos des espèces que les analyses quantitatives ordinaires n'ont pas mis en évidence, mais qui néanmoins peuvent exister dans l'eau à examiner, que je me vois dans l'obligation d'indiquer surtout des *desiderata* et non des méthodes précises et connues, sauf toutefois en ce qui concerne quelques bactéries pathogènes, auxquelles sera consacré le prochain chapitre.

Les Schizophytes sont, on le sait, très inégalement résistants aux températures relativement élevées et à l'action des divers agents chimiques qui jouent le rôle d'antiseptiques ; on connaît pour un certain nombre d'entre eux les limites exactes dans lesquelles s'exercent ces influences nocives, mais combien n'ont jamais

[1] Je ne saurais mieux faire, puisqu'il m'est absolument impossible d'entrer dans le détail de toutes ces opérations que de renvoyer le lecteur à l'excellent ouvrage du professeur Macé, de Nancy : *Traité pratique de bactériologie*, 2e édit., 1891, ouvrage écrit par un homme de laboratoire avec une clarté et une précision qui rendent sa lecture aussi séduisante qu'utile.

été étudiés de façon sérieuse à ce point de vue tout spécial !

Celui qui entreprendrait et mènerait à bien semblable étude en se préoccupant surtout des ressources que l'on en pourrait tirer au point de vue de la diagnose des espèces ferait œuvre éminemment utile et méritoire. Voyez en effet ce qui se passe lorsque nous faisons une analyse quantitative par l'un quelconque des procédés ci-dessus décrits : tous les bouillons ensemencés sont mis à l'étuve à 30°, 35° ou 37° centigrades ; les plaques ou tubes de gélatine sont laissés à la température de la chambre ou placés à l'étuve à 20-22°.

Dans l'un et l'autre cas toutes les espèces microbiennes *susceptibles de pulluler* à 30, 35, 37, 20 ou 22° centigrades feront acte de vitalité, et les unes troubleront les bouillons, les autres formeront des colonies sur la gélatine ; mais celles parmi les bactéries que renferme l'eau ensemencée qui exigent pour entrer en division ou pour germer (s'il s'agit de spores) des températures inférieures ou supérieures à celles que je viens d'indiquer, que deviendront-elles ? fatalement elles resteront inertes, inaperçues par conséquent, alors peut-être qu'au point de vue biologique ou hygiénique elles étaient les plus importantes.

Comment obvier à ce grave inconvénient et combler cette lacune des méthodes générales ? en soumettant systématiquement les milieux de culture à des températures graduellement croissantes qui s'opposeront souvent au développement des espèces banales et favoriseront au contraire la pullulation de celles pour lesquelles une chaleur plus considérable est nécessaire, ou bien en immobilisant par des doses déterminées de certains an-

tiseptiques plusieurs bactéries tandis que d'autres plus robustes ou moins sensibles végèteront malgré la présence de la substance empêchante.

En utilisant tour à tour ou en même temps de façon scientifique ces deux catégories d'agents, physiques ou chimiques, il sera peut-être possible d'arriver à la mise en évidence d'espèces qui, sans cet artifice, seraient restées absolument inconnues de l'analyste.

Mais il faut pour tenter cela avoir à sa disposition un outillage un peu plus compliqué que celui que j'ai jusqu'à présent indiqué et, avant tout, plusieurs étuves pouvant être réglées à des températures différentes.

Voici quel est en ce cas mon *modus operandi* :

En même temps que je procède à l'ensemencement de l'échantillon d'eau qui doit servir à l'analyse quantitative, j'ai soin d'en réserver quelques centimètres cubes qui sont répartis par gouttes plus ou moins nombreuses dans toute une série de récipients renfermant les uns de l'eau préalablement stérilisée, les autres du bouillon ; puis ces récipients sont placés dans des étuves chauffées respectivement à 45, 50, 60 et 70° centigrades. Au bout de 48 heures, l'eau stérilisée ensemencée sert à faire des plaques fermées (en tube à essai), en même temps qu'au moyen d'une aiguille de platine on trace une longue strie à la surface d'un tube d'agar, très obliquement incliné ; les bouillons qui se sont troublés sont examinés directement au microscope et, si cet examen décèle plusieurs formes de microorganismes, ils sont, eux aussi, ensemencés sur plaques et en strie sur gélose, de manière à ce que la dernière portion de l'agar ne reçoive qu'une quantité presque infinitésimale de la culture.

On peut obtenir ainsi, comme dans le procédé préco-

nisé par Roux et Yersin pour la dissociation dans les fausses membranes du bacille diphtéritique, quelques colonies isolées les unes des autres et pures, surtout si sans replonger le fil de platine dans le bouillon on réensemence de la même façon un nouveau tube d'agar.

Cette manière de procéder ne donne pas toujours des résultats positifs, c'est-à-dire n'amène pas constamment la découverte d'espèces qui n'avaient pas encore été constatées, mais dans quelques cas cependant elle permet de réussir et doit par conséquent être essayée.

Pour les antiseptiques, la question est plus délicate, parce que nous ne connaissons pas encore assez bien les doses utilisables pour chaque espèce ; nous verrons, du reste bientôt à propos du bacille d'Eberth, de quelle façon une de ces substances, l'acide phénique, peut être employée.

Miquel[1] opère de la façon suivante :

L'eau, versée dans un vase de verre allongé en forme de matras muni d'un capuchon rodé et tubulé ou de tout autre fermeture aseptique, fera d'abord l'objet de plusieurs plaques, puis ce vase sera placé dans un bain dont on élèvera progressivement et lentement la température jusqu'à 100° centigrades ; durant cette ascension, on prélèvera aux étapes considérées comme les plus importantes, c'est-à-dire à 50°, 65°, 80°, 100° quelques centimètres cubes d'eau qui seront répartis dans des vases de bouillons, des plaques de gélatine et de gélose. La gélatine ensemencée tout d'abord servira à déterminer les espèces qui croîssent à basse température ; la

[1] Miquel, *Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux*, p. 92, 1891.

gélose nutritive exposée dans des étuves ou mieux dans des bains chauffés à 30°, 40°, 50°, 60°, 70° permettra de découvrir les espèces appelées thermophiles, dont le développement n'est surtout manifeste qu'au delà de 40° centigrades.

Je crois que les espèces *thermophiles* ne sont pas les seules dont il faille se préoccuper ; il peut accidentellement en exister d'autres que l'on pourrait appeler *frigoriphiles* qui ne pullulent pas dans les milieux nutritifs même à des températures considérées comme étant *eugénétiques* pour la grande majorité des bactéries ; c'est ainsi que j'ai rencontré constamment dans l'estomac et l'intestin des escargots *(helix pomatia)* plusieurs sortes de microorganismes qui se développaient admirablement sur la gélatine et dans le bouillon lorsque celui-ci était placé à une température de 15-18°, tandis que dans les bouillons les plus divers, mis à l'étuve à 30-35°, elles restaient absolument inertes. De semblables espèces doivent bien certainement exister dans certaines eaux et il est bon d'en être averti. Quant aux substances chimiques antiseptiques ou autres à ajouter aux milieux nutritifs, dans le but de favoriser une espèce à l'exclusion d'une autre, elles sont très variées et peuvent l'être encore davantage.

Les acides sulfurique, azotique, chlorhydrique, tartrique, citrique sont parfois employés à des doses variant de 1 à 20 pour 1000. Il en est de même des alcalis, puis des antiseptiques à proprement parler : sublimé, acide phénique, iodoforme, thymol, sels de plomb, de cuivre et de fer, acide borique et borate de soude, acides benzoïque, salicylique, cyanhydrique, iodoforme, thymol, saccharine et même comme l'a tenté Miquel, le

chlorure de sodium à la dose de 5 à 15 pour 100, la glycérine dans les proportions de 10 à 20 pour 100, et enfin l'iode ou le brome qui, ajouté en très faible quantité aux bouillons ou aux gelées nutritives, leur confère une infertilité des plus remarquables vis-à-vis d'un grand nombre d'espèces[1].

Je signalerai enfin le touraillon (résidu de l'orge germé), dont j'ai à plusieurs reprises indiqué les propriétés nutritives ou au contraire antiseptiques, qui, sous forme de décoction ou de macération ou sous celle de milieu gélatinisé, constitue pour certaines espèces un excellent milieu de culture bien préférable à tous les autres (par exemple : la plupart des streptocoques)[2], tandis qu'à dose suffisante il empêche le développement d'autres espèces (bacille du choléra de Koch), vis-à-vis desquelles il joue même le rôle d'un antiseptique[3].

En combinant, comme l'a fait M. Vincent pour la recherche du bacille d'Eberth, la chaleur et les antiseptiques on peut arriver à des résultats remarquables au point de vue de la dissociation de certaines bactéries, résultat dont le nombre, il faut l'espérer, ne fera que s'accroître chaque jour.

1 Miquel, *Loc. cit.*, p. 105.

2 G. Roux, Sur la culture des bactéries et particulièrement des streptocoques dans les milieux au touraillon *(Société de biologie* 13 juillet 1889).

3 G. Roux, De l'action microbicide du bouillon de touraillon sur le bacille du choléra asiatique *(Soc. des sc. médic. de Lyon*, 9 et 16 juillet 1890 ; *Soc. de médecine de Lyon*, 28 juillet 1890 ; *Province médicale*, nos des 12 et 19 juillet 1890).

CHAPITRE VIII

ANALYSE QUALITATIVE

— SUITE —

Procédés spéciaux pour la mise en évidence de quelques bactéries pathogènes. — Recherche du bacille d'Éberth-Gaffky.

Procédés de Chantemesse et Widal, de Rodet (de Lyon), de Vincent, de Péré, de Parietti, de Loir. — Difficultés de diagnose du bacille typhique. — Formules de Nœggerath, [de Gasser. — Les bacilles pseudo-typhiques.

Recherche du bacille du choléra asiatique. — Procédé de Schottelius. Méthode des plaques. — Réaction du choléra Roth. — Diagnose différentielle avec quelques espèces voisines.

Recherche du bacille du tétanos de Nicolaier. — Quelques mots sur la culture des microbes anaérobies.

Recherche du vibrion septique; son existence fréquente dans les vases concurremment avec celui du tétanos.

Valeur relative de l'analyse quantitative et de l'analyse qualitative. — Importance de la détermination numérique des espèces bactériennes. — Recherches de Migula de Karlsruhe.

Critique sommaire des différentes méthodes.

B. *Procédés spéciaux pour la mise en évidence de quelques bactéries pathogènes.*

Le nombre des bactéries pathogènes qui ont été jusqu'à ce jour trouvées dans l'eau est encore bien peu considérable et la plus importante d'entre elles est sans contredit celle que l'on considère comme essentiellement liée à la fièvre typhoïde, le *bacille d'Eberth-Gaffky.*

1° *Recherche du bacille de la fièvre typhoïde :*

La recherche de ce microbe dans l'eau de boisson a acquis une véritable prépondérance et est devenue en

quelque sorte classique depuis les travaux de Chantemesse et Widal[1], en France, et depuis surtout que Brouardel[2] a démontré que la condition étiologique la plus fréquente incontestablement dans la propagation de la dothiénenterie se trouvait être précisément la contamination des eaux potables par le bacille d'Eberth.

Celui-ci fut dès lors recherché avec soin et souvent trouvé, si souvent même qu'il m'est impossible, dans ce manuel, d'énumérer seulement les travaux qui ont porté sur ce point spécial de la microbiologie analytique.

Mais à côté de ces cas positifs, il en est bon nombre d'autres qui sont restés absolument négatifs et dans lesquels, malgré les meilleures présomptions en faveur de la contamination, le corps du délit n'a pu être retrouvé dans l'eau.

Cet insuccès peut tenir à deux causes : ou bien le bacille typhique n'existait réellement pas dans les eaux analysées[3] et la maladie avait une toute autre origine ; ou bien, tout en étant présent, le microorganisme de la fièvre typhoïde n'a pu, en raison de son peu d'abondance ou de l'imperfection des méthodes, être décelé.

[1] Chantemesse et Widal, Le Bacille typhique *(Arch. de Physiologie*, 1887).

[2] Brouardel, Répartition de la fièvre typhoïde en France, d'après les documents fournis par la statistique médicale de l'armée et la statistique sanitaire dressée par le ministère du commerce et de l'industrie *(Rapport au comité consultatif d'hygiène*, t. XVIII, p. 487, 12 novembre 1888).

[3] Schneider. Sur 187 échantillons d'eau suspecte analysés avec le plus grand soin au Val-de-Grâce le bacille d'Eberth n'a été trouvé que 7 fois *(Soc. médec. publ. et hyg. prof.*, 26 février 1889). — Sur 70 échantillons d'eau de Marseille ensemencés largement, M. Cassedebat ne l'a jamais rencontré, etc., etc *(Annales Institut Pasteur*, 25 octobre 1890).

Ces deux alternatives ont dû se produire.

On a, à l'heure actuelle, une certaine tendance à revenir sur l'absolutisme de l'opinion de Brouardel et à ne plus admettre une proportion aussi considérable (90 pour 100) des *cas aqueux* de dothiénentérie. Pettenkofer croit à la propagation par les émanations provenant du sol quand baisse la nappe souterraine, lesquelles pénètrent par les voies respiratoires. Arnould (de Lille) croit lui aussi au transport possible des germes desséchés par l'air atmosphérique et à leur pénétration dans l'organisme par le poumon.

On connaît enfin à l'heure actuelle un certain nombre de faits analogues à celui signalé récemment par un médecin militaire russe, M. Chour [1], tendant à démontrer la propagation de la maladie par les poussières d'une chambre, poussières dans lesquelles on a pu déceler par les méthodes bactériologiques la présence du bacille d'Eberth.

Il est d'autre part reconnu aujourd'hui que la mise en évidence de ce bacille par les cultures n'est pas aussi facile qu'on le croyait autrefois, et qu'il est souvent nécessaire pour le trouver d'avoir recours à certains artifices.

Déjà en 1887, dans leur mémoire fondamental sur le bacille typhique, MM. Chantemesse et Widal [2], frappés des résultats inconstants auxquels étaient arrivés les auteurs qui les avaient précédés, Gaffky, Pfuhl, Eisenberg, Pfeiffer, Seitz, Wiltilzura, dans la recherche de ce microorganisme dans les matières fécales, persuadés que

[1] Cité par M. Vaillard, (du Val-de-Grâce) à la séance du 13 décembre 1889, de la *Société médicale des hôpitaux de Paris*.

[2] Chantemesse et Widal, *loc. cit.*

les insuccès étaient dus au développement exagéré et par trop hâtif des autres espèces banales des fèces, eurent l'idée de mettre à profit la résistance relativement considérable que présentait le bacille d'Eberth vis à vis l'acide phénique, et proposèrent le procédé suivant qui fut de suite adopté par tous les bactériologues et rendit d'assez longs services :

Dans chacun des tubes de gélatine devant servir à la confection des plaques on ajoute IV à V gouttes d'acide phénique au 1/20 pour un volume de 10 centimètres cubes de gélatine, puis on ensemence avec un fil de platine flambé trempé dans les déjections. L'acide phénique à la dose employée ne tue certainement pas tous les germes autres que celui de la fièvre typhoïde qui peuvent exister dans les selles, mais il éloigne les plus gênantes en empêchant notamment la pullulation de ceux qui liquéfient la gélatine, et l'on sait quel désastreux effet produisent ces derniers dans les cultures sur plaques ou en tubes d'Esmarch.

Par ce moyen les bacilles typhiques purent être facilement mis en évidence non seulement dans les matières fécales mais encore dans l'eau ; malheureusement le procédé est assez infidèle ; d'une part les solutions d'acide phénique perdent assez rapidement leur propriété empêchante, et d'autre part elles sont loin d'immobiliser toutes les bactéries fluidifiantes dont quelques-unes à végétation très rapide suffisent parfois pour étouffer ou pour masquer les colonies que l'on recherche spécialement. Aussi, n'est-il pas étonnant qu'on ait cherché une méthode plus sûre et tout aussi simple.

La première tentative dans ce sens est due à un lyonnais, mon excellent ami et collaborateur A. Rodet,

professeur agrégé à la Faculté de médecine, qui, le 29 juin 1889, proposa à la Société de biologie une nouvelle méthode de dissociation du bacille d'Eberth dans les selles et dans l'eau [1].

M. Rodet avait pris comme point de départ de ses recherches une observation de biologie microbienne de la plus haute importance et sur laquelle j'ai, du reste, déjà insisté, à savoir l'inégalité de résistance des espèces microbiennes aux différentes températures, et il avait notamment noté très exactement la limite supérieure à laquelle ne pouvait plus végéter le bacille typhique, limite qu'il avait reconnu être de 45 à 45°,5. Or, il avait observé qu'à cette température la grande majorité des bactéries habitant les selles humaines ou l'eau, était incapable de pulluler. En maintenant, par exemple, pendant vingt-quatre ou quarante-huit heures à 45° — 45°,5, des bouillons ensemencés avec des matières fécales vulgaires ou de l'eau non suspecte, ceux-ci restent le plus souvent stériles (sauf en ce qui concerne les moisissures qui s'y développent très bien).

Lorsque donc on veut rechercher l'organisme de la fièvre typhoïde dans des selles ou dans de l'eau, on place les bouillons ensemencés dans une étuve à 44°,5 — 45° centigrades. Si au bout de quarante-huit heures aucun des ballons n'est troublé on peut affirmer que le bacille d'Eberth n'y existe pas ; si au contraire quelques ballons ou même tous sont fertilisés, ou bien, le fait se produit assez souvent, ils renferment exclusivement le microbe cherché, ou bien ils contiennent en même temps d'autres bactéries banales.

[1] A. Rodet, Importance de la température dans la détermination du bacille typhique (*Société de biologie*, 29 juin 1889).

On doit dans tous les cas agir comme si on était d'avance sûr que la culture est impure et ensemencer sur plaques quelques gouttes du bouillon plus ou moins dilué. On opère ainsi une dissociation qui met sur la voie de la vérité.

Le procédé de M. Rodet a presque toujours entre ses mains et entre les miennes donné des résultats satisfaisants, sous cette réserve que le *Bacillus coli communis* dont nous ne connaissions pas encore à cette époque les très étroites affinités avec le bacille d'Eberth, résiste lui aussi très bien à la température de 45°,5. D'autres auteurs n'en ont pas été autant satisfaits, ce qui peut tenir au thermomètre dont ils se sont servis, ceci dit sous forme de simple hypothèse.

M. le docteur Vincent[1] (du Val-de Grâce), a notamment critiqué cette manière de faire et a proposé de lui substituer une méthode éclectique tenant à la fois de celle de MM. Chantemesse et Widal et de celle de M. Rodet, tirant parti à la fois de l'action de l'acide phénique et de celle des températures quelque peu élevées.

M. Vincent prépare tout d'abord une série de tubes ou ballons renfermant chacun 10 centimètres cubes de bouillon nutritif, et V gouttes d'acide phénique à 5 pour cent, soit I goutte d'acide par 2 centimètres cubes de bouillon. Dans 6 tubes ainsi préparés il verse de V à XV gouttes de l'eau à analyser, il les recouvre de capuchons de caoutchouc, et il les met à l'étuve ou au bain-marie à 42° centigrades ; dans le cas où l'eau est pure, c'est-à-

[1] H. Vincent, Sur un nouveau procédé d'isolement du bacille typhique dans l'eau *(Compte rendu Société de biologie*, p. 62, 7 février 1890).

dire ne renferme pas le bacille typhique, le bouillon reste ordinairement stérile. Si au contraire après huit à douze heures celui-ci commence à louchir, on ensemence son contenu avec un *öse* dans 6 nouveaux tubes phéniqués placés, eux aussi, à l'étuve à 42°.

On obtient d'ordinaire le bacille d'Eberth pur dès le premier ou le second passage, et on ensemence alors, avec l'öse, du bouillon ordinaire, de l'agar, de la gélatine, de la pomme de terre, etc.

Il est cependant parfois nécessaire, en raison de la très grande résistance que présentent à l'acide phénique quelques bactéries banales comme le *Bacillus subtilis*, le *Bacillus mesentericus vulgatus*, etc., d'opérer un troisième et même un quatrième passage dans le bouillon phéniqué.

J'avoue que pour ma part, sauf pour les eaux ensemencées artificiellement avec le bacille d'Eberth, j'ai eu, dans la plupart des analyses pratiquées suivant les préceptes précédents, beaucoup de peine à éliminer le *bacillus subtilis*.

Une particularité morphologique qu'il est très important de connaître pour ne pas s'exposer à des erreurs de diagnose est celle-ci : dans les bouillons phéniqués le bacille d'Eberth qui d'habitude présente, on le sait, des mouvements d'une extrême vivacité, est à peu près immobile; il se présente d'autre part sous la forme de diplo-bacilles extrêmement courts qui peuvent en imposer pour des diplocoques ; mais les caractères normaux sont rapidement récupérés dès la première génération dans le bouillon simple.

Un des inconvénients les plus graves qui puisse se présenter dans l'analyse qualitative d'une eau quel-

conque, lorsqu'il s'agit surtout d'y déceler la présence d'un organisme nettement pathogène, comme le bacille d'Eberth, réside dans l'obligation où se trouve le bactériologue de n'opérer que sur des quantités extrêmement faibles du liquide, quelques centimètres cubes tout au plus.

Il y a là un problème qui n'était pas sans préoccuper vivement tous ceux qui ont eu à pratiquer, dans ces conditions, une analyse microbiologique des eaux. Aussi, doit-on savoir gré à M. Péré, pharmacien major de l'armée, d'avoir cherché à le résoudre et d'y avoir réussi, si l'on en croit les résultats de ses recherches tentées sur les eaux d'Alger et exposées dans le numéro du 25 février 1891 des *Annales de l'Institut Pasteur*.

L'eau suspecte, dans le nouveau procédé d'analyse préconisé par M. Péré, est transformée en un terrain de culture suffisamment nutritif, dans lequel la présence d'une proportion déterminée d'*acide phénique*, sans empêcher la multiplication des germes du *bacterium coli commune* et du *bacille typhique*, met obstacle à celle des espèces étrangères, ainsi que l'a démontré la pratique des procédés usuels.

Mode opératoire. — Dans un récipient jaugé de 1 litre, stérilisé (matras ou ballon), on introduit 100 centimètres cubes de bouillon de bœuf normal[1], neutre et stérile, 50 centimètres cubes d'une solution de peptone pure à 10 pour 100, également neutre et stérilisée, et 600 à 700 centimètres cubes de l'eau à analyser. On ajoute alors 20 centimètres cubes, exacte-

[1] Par parties égales de viande de bœuf et d'eau.

ment mesurés, d'une solution d'acide phénique pur à 5 pour 100, et on emplit jusqu'au trait de jauge avec l'eau suspecte. Le liquide obtenu, liquide A, contient donc, par litre, un gramme d'acide phénique et 830 centimètres cubes d'eau suspecte.

On le répartit en dix vases stérilisés, fioles, ballons ou matras, munis de leurs bouchons d'ouate, et on le porte à la température moyenne de 34°. Il ne faut pas dépasser 36° ; on risquerait, par l'application un peu soutenue d'une température plus élevée, d'atteindre trop vivement les microbes que l'on recherche et de stériliser le terrain. La température de 32° à 36° est très convenable.

Un trouble se produit dans le cas d'une eau polluée par les espèces susdites, non pas à heure fixe, mais d'autant plus vite que la pollution est plus forte et que la température s'est maintenue plus élevée dans les limites assignées. On pourra déjà observer ce trouble vers la douzième heure, généralement entre la quinzième et la vingtième heure, mais seulement vers la trentième heure si la pollution est réduite à des traces : circonstance qui ne se présentera que rarement, sans doute, mais que l'on peut réaliser par l'expérience.

Dès que le trouble est bien évident, on ensemence le liquide A à l'aide d'un fil de platine flambé et recourbé en boucle, d'une part, dans un tube de bouillon normal qui pourrait déjà donner une culture pure de l'un des organismes que l'on recherche, et, d'autre part, sur un nouveau liquide stérilisé, renfermant, comme le premier, 1 gramme d'acide phénique, 5 grammes de peptone et 100 centimètres cubes de bouillon normal par litre, et réparti dans des tubes à essai.

On ensemence deux de ces tubes et on les expose pendant six heures à la température moyenne de 34°. A ce moment, que leur contenu soit trouble ou limpide, on l'ensemence par le même moyen que précédemment dans deux autres tubes où les organismes subissent leur troisième passage en liquide phéniqué dans les mêmes conditions de température. On attend, cette fois, que le trouble se produise ; l'ensemencement de ce dernier liquide sur bouillon normal donne, après quelques heures d'étuve, une culture pure du *Bacterium coli commune*, du bacille d'Eberth, ou un mélange des deux espèces, comme on peut le vérifier par culture sur plaque de gélatine.

M. Péré s'est assuré que les deux microbes supporteraient encore deux nouveaux passages sur liquide phéniqué, espacés de six heures, comme il en est pour le deuxième et le troisième passages ; on pourrait donc pratiquer ces passages nouveaux en vue de séparer quelques espèces étrangères ayant résisté au traitement ; il ne s'en est pas rencontré dans les eaux alimentaires d'Alger.

L'application de cette technique à l'examen d'échantillons d'eaux polluées naturellement ou artificiellement a montré que les dix vases remplis du liquide A se troublent tous en général, et l'observation de leur culture montre partout le même organisme. Il suffirait donc, le plus souvent, de préparer et de traiter 100 centimètres cubes de liquide A, correspondant à 83 centimètres cubes d'eau suspecte, sauf à répéter l'expérience sur un litre en cas de résultat négatif, et si l'examen de la canalisation, les recherches chimiques ou toute autre circonstance faisaient soupçonner une pollution.

M. Péré a réalisé ce cas d'une eau ne renfermant que des germes très rares, en diluant au millième un échantillon ensemencé avec une culture mixte de *Bacterium coli commune* et de bacille typhique, et qui, pour 1 centimètre cube, donnait sept colonies pouvant se rapporter à ces deux espèces. L'eau diluée renfermait donc environ sept germes par litre. Sur les dix matras contenant le liquide A, deux se sont troublés vers la trentième heure, trois autres avant la trente-sixième heure, les cinq derniers restèrent limpides.

Les espèces qui résistent au premier passage en terrain phéniqué sont celles qui ont été signalées par M. Vincent. Comme cet observateur, M. Péré a vu le microbe d'Eberth affecter la forme en diplocoque peu mobile, forme passagère due à l'action du milieu phéniqué, mais il récupère ses attributs morphologiques habituels par un ensemencement ou une série de trois ensemencements sur le bouillon normal.

Le *Bacterium coli commune* trouble le liquide, le plus souvent, avant le *Bacille typhique*, de sorte que si les deux espèces se trouvaient dans le même milieu, on pourrait craindre *a priori* que le premier se présentât seul après le troisième passage. L'expérience directe n'a pas justifié cette crainte : la méthode des plaques a montré que les deux microbes vivaient côte à côte dans le bouillon normal, après le premier et après le troisième passage en terrain phéniqué.

La méthode de M. Péré se rapproche, on le voit, beaucoup plus de celle de MM. Chantemesse et Widal que de celle de M. Vincent et surtout de M. Rodet; la température ne joue ici qu'un rôle d'incubation et n'est

nullement utilisée comme obstacle à la pullulation des bactéries banales.

Un auteur italien, D. Parietti[1], a de nouveau, lui aussi, préconisé l'acide phénique en cherchant à atténuer les causes d'insuccès qui lui étaient attribuées. Il a remarqué que la dose d'acide phénique capable d'arrêter le développement du bacille typhique dans une culture dépend avant tout de la quantité de semence introduite, de sorte qu'un même bouillon phéniqué restera stérile quand on y introduira seulement quelques germes, tandis qu'il se troublera si ces germes sont plus nombreux. C'est là une observation qui a été faite maintes fois au sujet d'autres organismes et d'autres substances et que j'ai moi-même signalé il y a quelques mois, à propos de l'action microbicide du bouillon de touraillon sur certaines bactéries.

Se basant sur la constatation précédente, M. Parietti prépare d'abord une solution acide de phénol contenant 5 grammes d'acide phénique, 4 grammes d'acide chlorhydrique et 100 grammes d'eau distillée ; puis dans des tubes à essai contenant chacun 10 centimètres cubes de bouillon, il ajoute III, VI et IX gouttes de la solution phéniquée, chaque goutte représentant environ 1/30 de centimètre cube, et opère, par agitation, un mélange parfait. Il les ensemence ensuite par séries avec des quantités graduellement croissantes I, II..., X gouttes de l'eau à examiner.

Les eaux ordinaires, sans bacilles typhiques, ne troublent d'ordinaire, au bout de quarante-huit heures,

[1] D. Parietti, Méthode de recherche du bacille typhique dans les eaux potables (*Rivista d'Igiene*, t. I, nº 11).

que les bouillons qui renferment le moins d'acide phénique et le plus d'eau ensemencée. Le bacille typhique, quand il existe, amène, au contraire, le plus souvent un trouble au bout de vingt-quatre heures.

On procède alors, pour le caractériser définitivement comme il a été dit précédemment, c'est-à-dire qu'on fait des cultures sur plaques, sur pommes de terre, sur milieux colorés, etc.

MM. Thoinot et Masselin[1] semblent attacher une assez grande importance à la technique adoptée par M. Loir qui filtre à travers une bougie Chamberland une grande quantité de l'eau suspecte et cultive ensuite le résidu déposé à la surface de la bougie. Il est certain que c'est là un procédé de concentration des germes microbiens qui est appelé à rendre souvent des services et qui permet, comme dans la méthode de M. Péré, d'opérer sur un volume considérable de liquide.

Malgré l'emploi des procédés que je viens de passer en revue et qui ne sont tous, sauf ceux de Rodet et de Loir, que des modifications plus ou moins importantes du procédé original de Chantemesse et Widal, il n'est pas toujours très facile de retrouver dans les eaux le bacille d'Eberth, d'autant qu'une nouvelle complication surgit ici, qui n'est pas la moins sérieuse.

Lorsqu'on a sous les yeux, sur plaque de gélatine une colonie répondant bien à la description donnée par Gaffky de celle du bacille typhique (fig. 35), la *montagne de glace* comme on l'a nomme parfois en France, est-on bien sûr qu'elle appartienne véritablement à l'espèce pathogène dont nous nous occupons en ce moment ? Il y

[1] Thoinot et Masselin, *Précis de microbie*, p. 366, Paris, 1889.

a trois ou quatre ans, l'hésitation était de courte durée et le bacille d'Eberth passait pour un des mieux caractérisés morphologiquement de la flore bactérienne ; sa culture sur pomme de terre, à peine visible, était disait-on, typique, et lorsque ce *criterium* avait été obtenu, contrôlé bien entendu par les autres caractères de forme, de mobilité, etc., le bactériologue affirmait hardiment l'état civil du microorganisme qu'il venait de trouver.

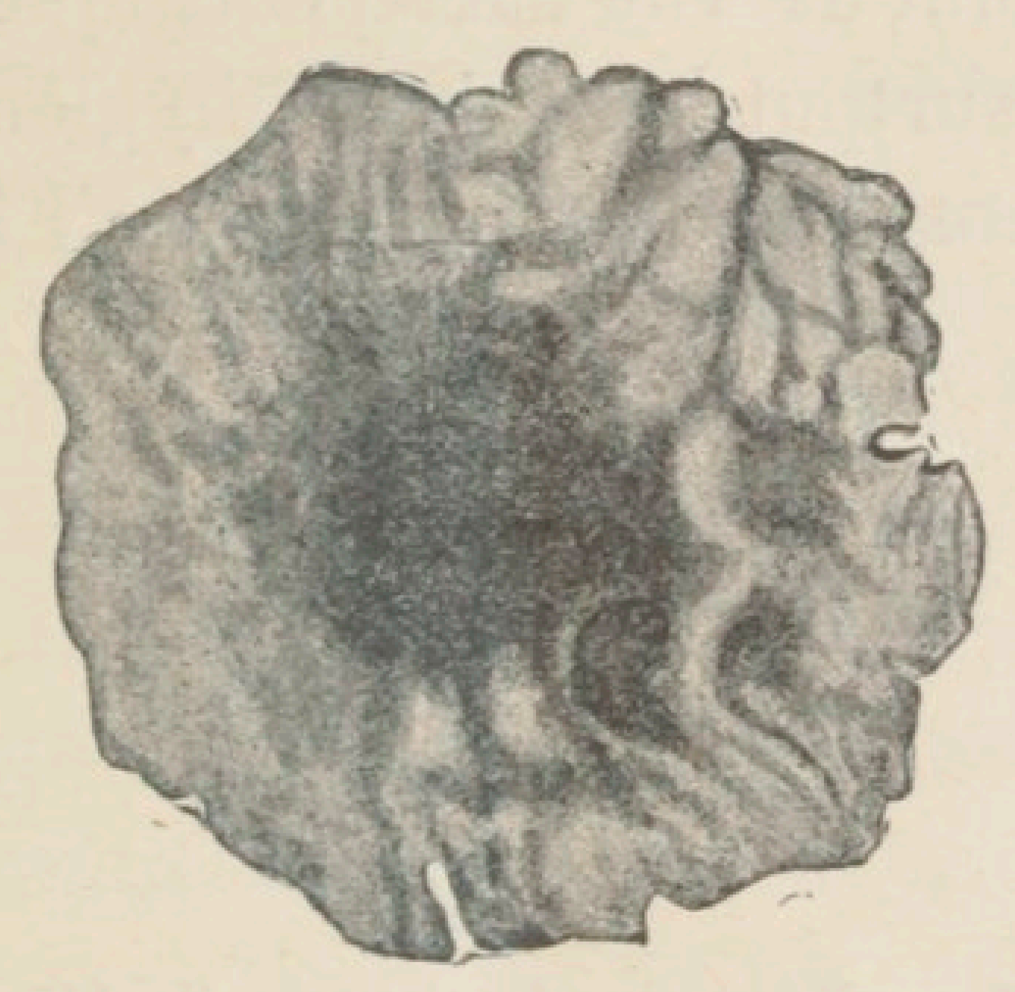


Fig. 35. — Aspect d'une colonie de *bacille typhique* obtenue du sang de la rate d'un typhique, en culture sur plaques après cinq jours (d'après une photographie 60/1).

Quantum mutatus ab illo..... les temps sont bien changés et les opinions sont loin aujourd'hui d'être aussi fermes.

C'est qu'on a rencontré et que l'on rencontre encore à tout instant, précisément dans l'eau, des espèces (?) se rapprochant singulièrement par la plupart de ces caractères dits typiques du véritable bacille d'Eberth.

C'est à cette pléiade dont la liste s'accroît chaque jour qu'on a donné les noms de *similtifo* (auteurs italiens) *éberthiforme* (G. Roux) *pseudo-typhiques* (Cassedebat), sans compter que pour certains auteurs,

le *bacillus coli communis* n'est qu'une forme saprophytique du bacille typhique (A. Rodet et G. Roux)[1] ou, tout en conservant son individualité propre, est capable dans certains cas de provoquer des accidents typhiques (Macé)[2], peut en un mot devenir typhogène. Or, l'on sait combien sont en tout cas voisins l'un de l'autre le bacillus coli communis et celui d'Eberth.

On comprend aisément de quelle importance est, non seulement au point de vue bactériologique ou médical, mais encore et surtout à celui de l'hygiène publique et privée, la diagnose exacte du bacille d'Eberth qui peut



Fig. 36. — Formes ordinaires du B. d'Eberth.

être rencontré dans l'eau. Or, ce n'est pas ordinairement par une particularité unique, mais par tout un ensemble de caractères tirés des modes de culture sur les milieux les plus divers, de la morphologie et de la biologie des bactéries, que celles-ci peuvent être différenciées spécifiquement. Pendant longtemps on a cru, en ce qui concerne le bacille de la fièvre typhoïde, que certains de ces caractères, étaient en quelque sorte pathognomoniques, tels, par exemple, que la présence

[1] A. Rodet et G. Roux, Sur les relations du B. coli communis avec le B. d'Eberth et avec la fièvre typhoïde (*Soc. de biologie*, 21 février 1890).

[2] Macé, *Traité pratique de bactériologie*, p. 435, 2e édit, 1891.

d'un espace clair central dans le corps du bacille, sa forme en navette (Artaud) (fig. 36), sa colorabilité quelque peu difficile, l'aspect de ses colonies sur plaques de gélatine et enfin sur pomme de terre. Les bactériologues sont bien revenus aujourd'hui de ces illusions passagères, et pour affirmer leur diagnostic, ils sont obligés d'entasser observations sur observations et d'avoir recours à des artifices spéciaux de culture sur des milieux déterminés dont ils enregistrent avec grand soin les modifications d'ordre physique et chimique.

Lorsque M. Rodet *(loc. cit.)* proposait pour la mise en évidence du bacille d'Eberth, les températures de 44°,5, 45° centigrades, il donnait en même temps comme l'indique le titre même de sa communication à la Société de biologie, un moyen de détermination spécifique de ce microorganisme ; il a en effet, rencontré assez fréquemment dans l'eau un bacille qui lui ressemble singulièrement, qui pourrait être confondu avec lui, mais qui en diffère précisément par sa résistance moindre à la température ; il ne se développe pas en effet au-dessus de 42° centigrades.

Depuis cette époque, et à mesure que les difficultés en ce sens devenaient plus considérables, de nouvelles méthodes ont été préconisées dont je ne citerai que quelques-unes, car un livre tout entier serait à peine suffisant aujourd'hui pour traiter des questions qui se rapportent au bacille de la fièvre typhoïde.

Nœggerath[1], a le premier cherché à utiliser pour le diagnostic du bacille d'Eberth la façon dont se comporte celui-ci sur les milieux nutritifs colorés avec les cou-

[1] Nœggerath, *Forschritte der Medicin*, VI, p. 1. 1888.

leurs d'aniline. Voici la formule du mélange colorant qu'il propose pour cela :

Solution aqueuse saturée	de bleu de méthylène.	2	cent. cubes
— —	de violet de gentiane..	4	—
— —	de vert de méthyle. .	1	—
— —	de chrysoïdine. . . .	3	—
— —	de fuschine	4	—
Eau distillée.		200	—

Laisser reposer quinze jours et ramener à la couleur primitive (le liquide doit colorer le papier joseph en gris foncé ou bleu noirâtre), en ajoutant par tâtonnement les couleurs qui manquent.

Une dizaine de gouttes de cette solution sont alors ajoutées à 10 centimètres cubes environ de gélatine nutritive, laquelle est ensemencée en strie avec une parcelle de la culture que l'on se propose d'étudier. Celle-ci en se développant, décolore peu à peu la gélatine et prend, d'après Nœggerath, et aussi d'après MM. Grancher et Deschamps[1], si l'on a bien affaire au véritable bacille typhique, une teinte violet évêque, tandis que les espèces affines se colorent d'autre façon. Je suis absolument de l'avis de M. Gasser[2] qui trouve que ce procédé donne des résultats très incertains et qui a proposé de lui substituer dans le même but la gélose fuschinée (XX gouttes de solution aqueuse saturée de fuschine pour un tube d'agar) à la surface de laquelle

1 Grancher et Deschamps, Recherches sur le bacille typhique dans le sol *(Arch. de méd. expérim.*, n° 1, 1889).

2 Gasser, Étude bactériologique sur l'étiologie de la fièvre typhoïde, thèse Paris, 1890; Culture du bacille typhique sur milieux nutritifs colorés *(Arch. de méd. expérim.*, II, p. 750, 1890, et *Comptes rendus Soc. Biologie*, p. 463, 19 juillet 1890).

on pratique des ensemencements en strie ; le long de celle-ci, la colonie se développe en décolorant la gélose tout autour d'elle et au bout de quarante-huit heures la culture a une belle teinte rouge, tandis que le substratum se décolore de plus en plus jusqu'à perdre toute teinte.

Il est intéressant de noter que sur ce milieu le bacillus coli communis se comporte exactement comme le bacille d'Eberth et que la seule différence porte sur ceci : que la bande formée par la culture du premier est plus régulière que celle du second, et que la décoloration de la gélose s'opère plus rapidement avec le bacillus coli.

D'autres signes différentiels d'ordre chimique ont été aussi indiqués ; c'est ainsi que Kitasato[1] a montré que, contrairement à beaucoup d'autres bacilles qui pourraient être confondus avec lui, le bacille typhique ne donne pas la réaction de l'*indol* dans les cultures où il a poussé. Parietti[2] a tout récemment vérifié ce fait et lui accorde une très grande importance.

M. Cassedebat[3] qui, dans deux cent cinquante cultures faites avec soixante-dix échantillons des eaux de Marseille, n'a jamais rencontré le véritable bacille d'Eberth a, par contre, isolé une série de trois bacilles qu'il appelle *pseudo-typhiques*, lesquels ne se différencient du vrai que par des caractères d'importance très variable, tels que le bronzage des colonies d'Eberth, la liquéfaction plus ou moins tardive et irrégulière de

1 Kitasato, *Zeitschr. f. Hyg.*, t. VII, 1889.

2 D. Parietti, *Rivista d'Igiene*, t. I, nº 11.

3 Cassedebat, Le bacille d'Eberth-Gaffky et les bacilles pseudo-typhiques dans les eaux de rivière (*Annales de l'Institut Pasteur*, octobre 1890). — Voir aussi *Comptes rendus Acad. des sc.*, 14 août 1890, et *Comptes rendus Soc. de biol.*, 21 juin 1890.

la gélatine par les pseudo-typhiques et surtout la manière différente de se comporter dans les liquides (bouillon et lait) colorés suivant la méthode de Nœggerath, ou plutôt suivant une modification de cette méthode.

Il y a dans l'étude de M. Cassedebat à retenir une observation qui, à mon avis, présente un très grand intérêt, étant donnée l'importance que l'on a voulu attribuer à la liquéfaction ou à la non liquéfaction de la gélatine par les espèces bactériennes.

Son bacille pseudo-typhique 1, dans ses premières générations, liquéfiait la gélatine après une quarantaine de jours seulement ; or, dans des générations ultérieures *il ne l'avait pas encore fluidifié après quatre-vingt-seize jours*, alors qu'elles provenaient directement cependant des premières.

Avec son bacille pseudo-typhique 2 la liquéfaction n'est même survenue qu'au bout de *120 jours* alors qu'avec le bacille 3 elle se produisait avant le *25e jour*. Or tous les bactériologues savent qu'un des caractères les plus typiques du bacille d'Eberth est *de ne pas liquéfier la gélatine*, mais combien d'observations ont été poursuivies au delà du 120e jour !

Cette assertion de M. Cassedebat me remet en mémoire un fait qui m'est personnel et qui concerne une *périméningite spinale suppurée* dans le pus de laquelle il me fut possible par la méthode des plaques de mettre en évidence un bacille et deux staphylocoques ; ces derniers étaient les *staphyl. pyogenes aureus et albus* ; quant au bacille il avait tous les caractères, tous sans exception, du bacille d'Eberth, et un des plus éminents bactériologues de Paris, auquel je montrai ses colonies, n'hésita pas à le considérer comme tel. Or c'était, à l'époque dont

je parle, la première fois qu'on aurait rencontré dans le pus le microorganisme de la fièvre typhoïde et cette constatation était d'autant plus intéressante que le malade n'avait aucun symptôme ni aucune lésion de la dothiénentérie. Je voulus, avant de publier l'observation et pour m'entourer de toutes les garanties désirables, refaire les cultures sur les substrata les plus variés ; un certain temps s'écoula ainsi et je fus un jour fort étonné en constatant, au bout d'un mois environ, que mes colonies sur gélatine avaient liquéfié celle-ci. Je les réensemençai alors et constatai un mois plus tard la même particularité, de sorte qu'en publiant enfin mon observation je n'osai plus parler de bacille d'Eberth mais bien d'un bacille *éberthiforme*.

Je me demande aujourd'hui si ce n'est pas au véritable bacille typhique que j'ai eu affaire, bacille ayant acquis par son habitat particulier la faculté de secréter tardivement des diastases et de produire ainsi une liquéfaction de la gélatine à longue échéance. Nos connaissances actuelles en Microbie générale rendent tout au moins cette hypothèse très plausible.

Si j'ai rappelé ce fait c'est pour montrer : d'une part, que la fluidification de la gélatine n'a peut-être pas une importance aussi grande que celle qu'on a voulu lui attribuer, et pour mettre, d'autre part, en garde l'analyste contre ces liquéfactions tardives qui sont, l'expérience me l'a démontré, plus fréquentes qu'on ne le croit d'ordinaire.

V. Babès[1], parlant de quelques caractères du bacille

[1] V. Babès, Sur la variabilité et les variétés du bacille typhique (*Zeitschr. für Hygiene*, p. 329 et 333, 1890).

typhique peu ou point remarqués, dit ceci : « quelques millimètres au-dessous de la surface de la gélatine se développent, parfois au bout de 19 jours, habituellement seulement au bout de plusieurs semaines ou même de plusieurs mois, un ou plusieurs faisceaux circonscrits et denses de cristaux blanc-jaunâtres dont le diamètre ne dépasse pas 3 à 4 millimètres. Les cristaux eux-mêmes restent assez petits et forment des ramifications denses. En même temps les couches supérieures de la gélatine prennent une couleur jaune plus intense. Plus tard la gélatine se fendille et ce n'est qu'alors que les cristaux gagnent en profondeur. Sur agar, le vrai bacille d'Eberth présente en outre un éclat métallique particulier. Quelques-unes des variétés très voisines de bacille typhique typique ne forment pas de cristaux tandis que d'autres en produisent de différents, par exemple, des cristaux plus petits, plus denses, blancs, luisants ; dans quelques-unes la formation des cristaux s'étend jusqu'au bout de la piqûre, tandis que dans d'autres elle reste limitée à la surface. »

Ces caractères différentiels sont, on le voit, quelque peu spécieux et en tous cas apparaissent trop tardivement pour rendre des services immédiats à l'analyste ; ils ne sont d'autre part même pas absolus puisque Babès *(loc cit.)* nous dit lui-même dans ses conclusions qu'il peut arriver que le bacille typhique typique ne forme pas de cristaux sur certains terrains de culture ou devienne un peu plus brun que d'ordinaire dans les parties profondes ou ne présente pas sur agar l'éclat métallique qui lui est propre.

Au reste, le savant professeur de Budapesth conclut en disant qu'il existe toute une succession de formes

intermédiaires entre le bacille typhique typique et les bacilles purement saprogènes qui s'en rapprochent au point de vue morphologique.

« Quant à savoir si l'un ou l'autre de ces bacilles, dit-il, peut avoir cette action spécifique (de produire la fièvre typhoïde), c'est au temps à décider ; *il est pourtant très probable* que ces bacilles dont l'action pathogène sur de petits animaux est, à peu d'exceptions près, semblable à celle du bacille typique, *ont quelque part au processus typhique.* »

Et, bien qu'il ajoute qu'à côté du bacille typhique on ne rencontre pas un seul et même microbe, uniquement le *bacillus coli communis*, comme quelques-uns l'admettent, lequel du reste a probablement plusieurs variétés naturelles, on ne peut s'empêcher de constater combien les idées du collaborateur du professeur Cornil se rapprochent de celles que nous avons soutenues M. Rodet et moi et qui, j'en ai l'intime conviction, auront tout au moins eu le mérite d'attirer l'attention sur un fait d'une importance majeure en Microbie générale, en étiologie pathogénique et en hygiène.

Je crois devoir énumérer ici, avec M. Cassedebat[1] les particularités de culture les plus saillantes qui permettent de différencier d'avec le bacille d'Eberth et entre elles les espèces autres que ses pseudo-typhiques qu'au premier abord on pourrait confondre avec le microorganisme de la fièvre typhoïde.

[1] Cassedebat, Le bacille d'Eberth-Gaffky et les bacilles pseudo-typhiques dans les eaux de rivière *(Annales de l'Institut Pasteur*, octobre 1890). Je renvoie le lecteur à ce mémoire pour les caractères de différenciation des bacilles pseudo-typhiques et du bacille d'Eberth. Vincent déclare au reste qu'il n'est guère possible de les confondre entre eux *(Annales de l'Institut Pasteur,* octobre 1890).

B. subtilis. — Liquéfaction rapide de la gélatine.

B. coli communis. — Sur pomme de terre : couche épaisse jaunâtre ou purée de pois.

B. Janthinus (Zopf). — A la longue teinte violette des cultures.

B. fluorescens putidus. — Auréole verdâtre des colonies sur gélatine. Coloration rosée avec bulles de gaz sur pomme de terre.

B. pseudo typhique de Weichselbaum. — Bord des colonies vert-fluorescent ; sur pomme de terre : cultures grisâtres d'abord puis jaunâtres et enfin cireuses.

B. aquatilis sulcatus 1 (Weichselbaum). — Sur pomme de terre tantôt développement invisible et tantôt production abondante, saillante et passagèrement verdâtre.

B. aquatilis sulcatus 2. — Identique au B. janthinus de Zopf ; sur pomme de terre quelquefois végétation gris-bleuté puis gris jaune ou bleuté pouvant devenir cireuse. — Odeur urineuse.

B. aquatilis sulcatus 3. — Sur pomme de terre culture d'abord jaune clair puis bleu-verdâtre. — Odeur de saumûre de hareng.

B. aquatilis sulcatus 4. — Pas de développement sur la pomme de terre ni à la température ordinaire, ni à 37° centigrades.

B. aquatilis sulcatus 5. — Sur pomme de terre à la température ordinaire culture jaune pâle avec coloration jaune-gris tout autour.

Santori, d'autre part, a isolé des eaux de Rome quatre formes de bacilles qui ressemblent beaucoup au bacille d'Eberth ; la seule différence qu'il ait constaté c'est

qu'ils provoquent la caséification du lait ce qui n'a pas lieu avec le vrai bacille typhique.

Santori[1], d'accord en cela avec Frœnkel et Simmonds, conclut de ses recherches que l'apparence des cultures sur pomme de terre du bacille d'Eberth ne peut plus être considérée comme pathognomonique, certaines d'entre elles pouvant être saillantes et jaunâtres.

Nous avons, M. Rodet et moi, observé l'inverse, c'est-à-dire le développement à peine sensible du *B. coli communis* sur la pomme de terre qui rendait ses cultures identiques à celles qui passaient autrefois pour les plus caractéristiques du *Bacillus typhosus*.

L'accord, on le voit, est loin d'être fait sur cette question et il faudra, je le crois, encore bien des efforts avant que la diagnose de ce dernier microorganisme devienne facile et sûre.

D'après Hueppe l'existence ou la non existence de cils vibratiles constituerait le seul caractère différentiel entre le B. coli et le B. d'Eberth.

Recherche du bacille du choléra asiatique. — Il peut être extrêmement important au début d'une épidémie de cholérine ou lorsque quelques cas même isolés de diarrhée grave ou de choléra ont apparu dans une localité de savoir rechercher dans l'eau de boisson la bactérie à laquelle Koch et un grand nombre d'auteurs attribuent la production du choléra asiatique, le *Spirillum choleræ* de Koch ou bacille virgule, ou encore kommabacillus.

Cette bactérie, on le sait, a en effet été trouvée par

[1] Santori, Su di alcuni microorg. facili a scambr. con quel. del tifo abdom. riscontr. in alc. acque potale. di Roma *Bollet. del. commis. spec. d'Igiena del Municip. di Roma*, fasc. 8, 1889).

Koch[1] dans l'eau d'un étang d'un village des Indes qui servait à la fois de boisson aux habitants et de réceptacle aux immondices des cholériques ; il a pu être isolé aussi par Rietsch[2] dans l'eau du vieux port de Marseille lors du choléra qui a régné dans cette ville en 1884 ; certains auteurs, d'autre part, et notamment M. Bouveret (de Lyon)[3] attribuent le rôle principal à l'eau dans la dissémination de la maladie.

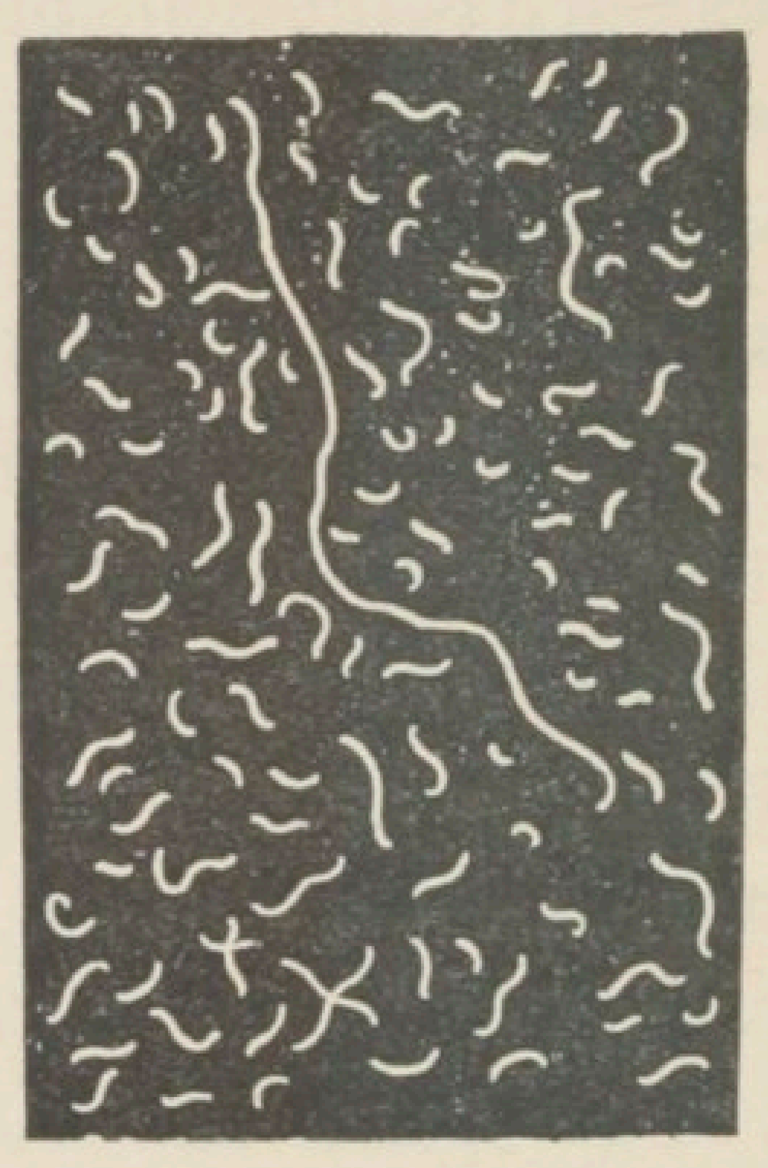


Fig. 37. — Spirilles du choléra asiatique.

Les spirilles du choléra qui sont loin de se présenter toujours avec la forme spiralée sont le plus ordinairement constitués par de courts bâtonnets, de 1,5 μ à 3 μ de long sur 0,4 μ à 0,6 μ de large, tantôt droits, tantôt courbes et rappelant alors assez exactement la forme

[1] Koch, *Conferenz zür Erörterung der Cholerafrage*, Berlin, 1884.

[2] Nicati et Rietsch, Recherches sur le choléra (*Arch. de Physiologie*, 1885).

[3] Bouveret, Relation de l'épidémie cholérique dans l'Ardèche (*Soc. des sciences médicales de Lyon*, 1885).

d'une virgule, d'où le nom de bacilles-virgules qui leur a été donné.

Enfin, assez souvent dans les cultures, surtout dans les bouillons, on trouve des formes en S ou même de longs filaments spiralés, à nombreux tours peu serrés plutôt ondulés, qui peuvent aussi être obtenus dans la gélatine alcoolisée à 10 pour 100 (Babès). Cet organisme est extrêmement mobile, possède des flagelles (Dowdeswell [1]), mais voit sa mobilité, qui est surtout vive vers 30-35° centigrades, s'atténuer et cesser presque complètement vers 16° centigrades. Il produirait, d'après Hueppe[2], entre 22° et 37° centigrades, des spores exogènes ou arthrospores immobiles, un peu plus résistantes que les spirilles et germant directement en donnant un bâtonnet courbe.

Chose curieuse, le komma bacille a une vitalité peu intense et se trouve détruit par des doses très faibles d'acides minéraux ou d'antiseptiques comme par une température relativement peu élevée (50-55° centigrades) ou même la simple dessiccation; j'ai moi-même, l'année dernière, montré combien il était sensible à l'action du bouillon de touraillon à 10 pour 100 qui, même alors qu'on pratique un copieux ensemencement, le tue en quelques heures [3].

Pour la mise en évidence de ce microorganisme dans l'eau, on pourrait peut-être utiliser le procédé dont s'est

[1] Dowdeswell, *Annales de micrographie de Miquel*, 20 mai 1890.

[2] Hueppe, Ueber die Dauerformen der sogenannten Kommabacillen (*Fortschr. der Medicin.*, III, n° 19, 1885).

[3] G. Roux, *Sur l'action microbicide du bouillon de touraillon sur le bacille du choléra*, 1890.

servi Schottelius [1], pour le déceler dans les déjections qui n'en renferment qu'un petit nombre ; cet auteur a vu en effet qu'en mélangeant les déjections avec un volume à peu près double de jus de viande stérilisé, au bout de douze heures à l'étuve à 30-38°, la surface du liquide se couvrait de spirilles du choléra excessivement abondants, constituant presque une culture pure; mais bientôt apparaissent les microbes de la putréfaction qui font complètement disparaître les premiers ; Klebs, Ceci, van Ermengem ont confirmé cette observation.

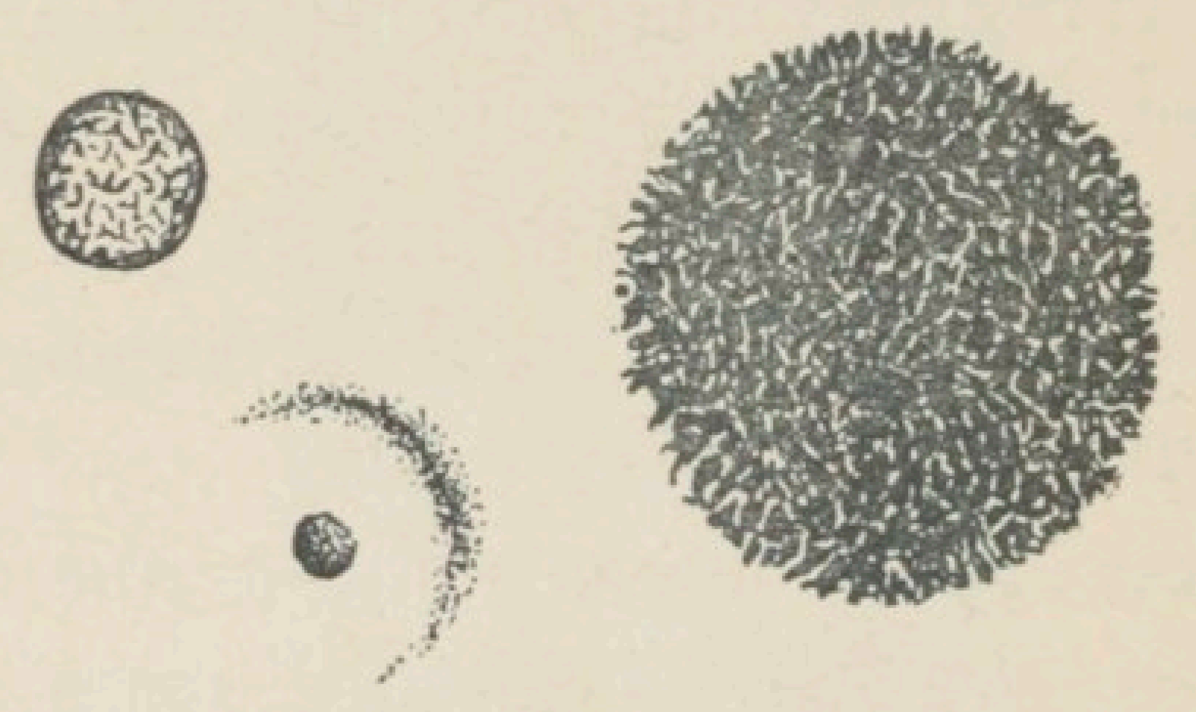


FIG. 38. — Colonies de *Spirille du choléra*, en culture sur plaques. A gauche, colonie après quarante-huit heures, 90/1 ; en bas colonie au troisième jour située au fond d'une excavation de la gelée, 10/1 ; à droite, partie centrale d'une colonie au quatrième jour, 100/1. d'après van Ermengem.

Mais c'est surtout à la méthode des plaques que l'on doit avoir recours pour isoler le spirille du choléra dont les colonies présentent dès l'abord un aspect assez caractéristique. En vingt-quatre heures, à 18-20° centigrades, elles ne sont représentées encore que par de petits points blanchâtres dont les superficiels sont un peu plus gros que ceux enfouis dans la gélatine ; examinés à un faible grossissement, ces points apparaissent

[1] Schottelius, Zum mikrosk. Nachw. von Cholera Bac. in Dejection (*Deutsche medicinische Wochenschrift*, n° 14, 1885).

comme de petits disques granuleux, presque transparents, à bords un peu sinueux, ayant assez l'aspect de leucocytes (van Ermengem) (fig. 38) ; leur apparence granuleuse s'accentue le jour suivant et la colonie rappelle à ce moment une agglomération de petites perles de verre ; vers le troisième jour, les bords deviennent dentelés et moins nettement limités, en même temps commence la liquéfaction de la gélatine qui affecte la forme d'une cupule au fond de laquelle s'enfonce la colonie. Au quatrième jour, celle-ci présente un noyau central légèrement jaunâtre et a ses bords déchiquetés ; tout autour se trouve une zone annulaire de gélatine liquéfiée, dont le liquide est trouble, jaunâtre et exhale une odeur rappelant celle de l'urine de souris.

Lorsqu'on rencontre sur une plaque de gélatine une semblable colonie, il est toujours bon, pour assurer autant que possible son diagnostic, de l'ensemencer de suite en piqûre sur la gélatine ; ce mode de culture, et surtout la façon dont s'opère la liquéfaction fournissant des signes précieux pour distinguer le *Spirillum choleræ* de Koch de celui de Finckler et Prior. Dans cette dernière espèce en effet, la liquéfaction produit un entonnoir semblable à celui de la première (komma-bacille), mais elle progresse beaucoup plus vite ; en quarante-huit heures, à 20-25° centigrades elle a atteint le fond de la piqûre, il s'est formé un large sac de liquéfaction alors que l'entonnoir du spirille du choléra asiatique, dans les mêmes conditions, est encore très distinct et que son canal d'inoculation présente à peine une trace de liquéfaction.

Les figures 39 et 40 rendent bien compte de ces différences. Sur plaque, au reste, la liquéfaction est aussi

beaucoup plus rapide pour le *Spirillum Finckleri ;* il en est de même du développement général de la colonie, en sorte que, après vingt-quatre heures, deux colonies de

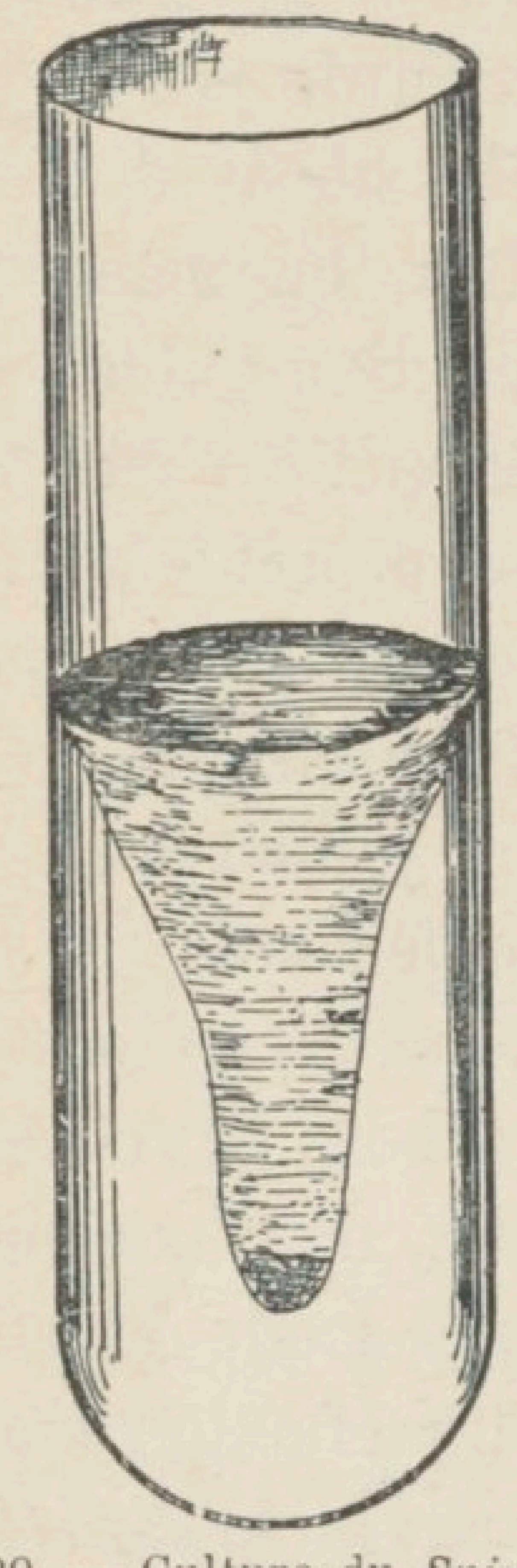


Fig. 39. — Culture du *Spirillum choleræ*, après vingt-quatre heures.

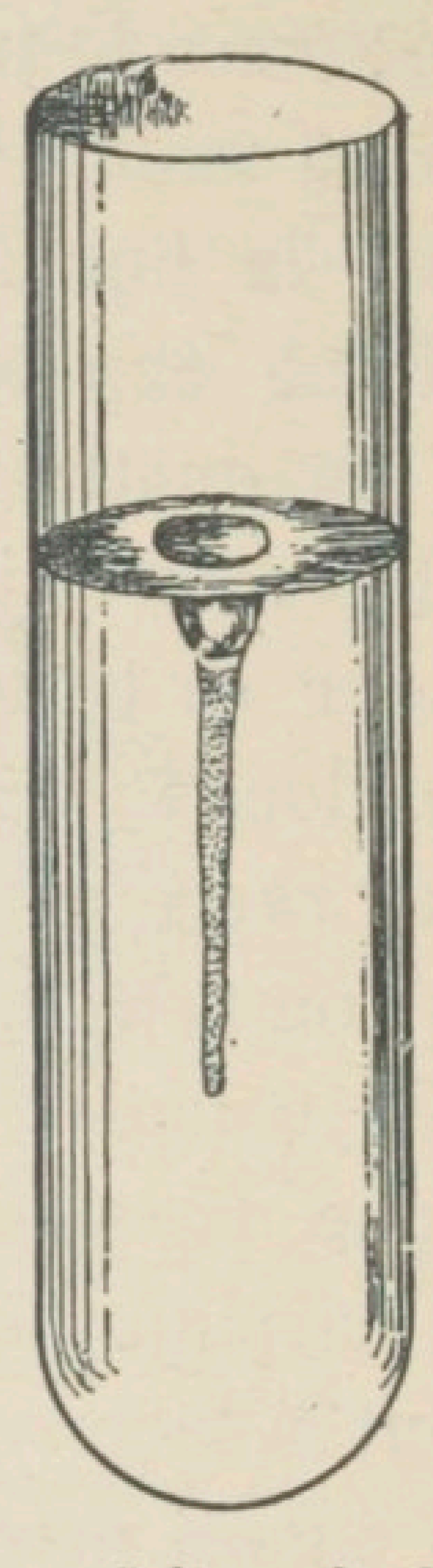


Fig. 40. — Culture du *Spirillum Finckleri*, âgée de deux jours.

ces deux espèces, exactement de même âge et placées dans des conditions identiques, se montrent respectivement avec les dimensions représentées dans la figure 41.

Dans le bouillon, même à 22° centigrades, le bacille-virgule amène un trouble très rapide en vingt-quatre ou trente-six heures et forme en trois ou cinq jours à sa surface une pellicule mince, fragile, se fragmentant facilement, d'un blanc sale.

Buchner a signalé une particularité qui pourrait être dans certains cas utilisée pour la recherche du bacille

du choléra ; le bouillon qui a déjà servi de milieu de culture à ce bacille est inapte après filtration à servir au développement d'un très grand nombre d'espèces de bactéries et notamment de celles qui peuvent se rencontrer dans l'intestin ; le bacille-virgule seul y prospère. Aussi propose-t-il, dans les cas où le diagnostic reste douteux, d'ensemencer sur un semblable bouillon la colonie suspecte.



Fig. 41. — Colonie du *Spirille de Finckler et Prior*, sur plaques de gélatine, après vingt-quatre heures. A droite, se trouve une colonie du *Spirille du choléra*, de même âge, beaucoup plus petite, 40/1, d'après van Ermengem.

Les cultures pures du komma bacille présentent une réaction particulière trouvée par Brieger[1], en 1887, puis étudiée la même année par Budjwid[2] et Ali-Cohen, à laquelle on donne le nom de réaction du rouge du choléra ou *Cholera-Roth*.

Elle s'obtient en traitant le bouillon de culture par un acide minéral et notamment l'acide sulfurique, puis par l'éther qui dissout une substance d'un rose rouge ; elle a pendant quelque temps été considérée comme caractéristique du bacille-virgule en cultures pures (Budjwid) et aurait eu en ce cas une très grande importance. Mal–

[1] Brieger, *Soc. de méd. int. de Berlin*, 22 juin 1887.
[2] Budjwid, *Zeitschrift für Hygiene*, II, p. 52, 1887.

heureusement, Ali-Cohen[1] n'a pas tardé à démontrer qu'elle existait pour des espèces très voisines morphologiquement de celle du choléra asiatique, telles que : *Spirillum Finckleri*, *S. tyrogenum*, *S. sputigenum*.

Il existe un certain nombre de microorganismes qui pourraient être confondus avec le bacille virgule ; il est bon de les connaître et surtout d'être fixé sur leurs caractères différentiels ; je cite ici les principaux d'entre eux :

Spirillum sputigenum. — Se trouve dans la salive et les produits de la carie dentaire (Miller et Lewis), n'a été cultivé jusqu'à présent dans aucun milieu nutritif connu.

Spirillum tyrogenum. — Hôte des vieux fromages (Deneke), forme sur plaques de gélatine de petites colonies circulaires brunâtres, à contours sombres et *très nets* et amène une liquéfaction encore plus hâtive que ne le fait le komma bacillus, moins rapide cependant que celle du spirille de Finckler. Ses effets pathogènes sur les animaux sont presque nuls.

Spirille de Finckler et Prior (choléra nostras). — Le développement de ses colonies sur plaques de gélatine est beaucoup plus rapide que celui du spirille de Koch ; la liquéfaction est aussi plus hâtive, ce que l'on observe bien surtout dans les cultures sur gélatine-piqûre ; ses effets pathogènes sont moins marqués.

Cornil et Babès[2] signalent dans les selles des cholériques un organisme que l'aspect de ses colonies pourrait faire confondre avec le bacille virgule, mais qui en diffère en ce qu'il liquéfie plus lentement la gélatine et, mieux encore, en ce qu'il n'est ni courbe, ni mobile.

[1] Ali-Cohen, Sur la valeur du Cholera-Roth (*Fortschritte der Medicin*, nº 17. 1887).

[2] Cornil et Babès, *Les Bactéries*, 3e édit. 1890.

Héricourt[1] a aussi trouvé dans l'eau, l'air et les poussières des bactéries courbes, qu'il rapproche sans aucune raison du spirille du choléra. J'ai retrouvé certains de ces spirilles dans des eaux stagnantes où se trouvaient de nombreux cadavres de limnées ; leur forme seule pourrait établir une confusion.

Je dois enfin signaler l'opinion de Emmerich[2], qui, sans aucune preuve sérieuse, considère comme spécifique du choléra son *Bacillus neapolitanus* trouvé dans l'intestin des cholériques.

INDICATIONS SOMMAIRES SUR LA RECHERCHE DES MICROBES ANAÉROBIES

Bien que ce livre soit exclusivement consacré, je l'ai expressément noté, à l'étude des procédés de recherche des Bactéries aérobies de l'eau, je ne peux cependant pas me dispenser de donner quelques très sommaires indications sur la façon dont on doit s'y prendre pour mettre en évidence deux bactéries anaérobies qui se rencontrent très fréquemment, soit dans l'eau même, soit plutôt dans les dépôts, vases ou boues qui tapissent le fond de certains cours d'eau, où même des bassins de filtration : le *Vibrion septique* et le *Bacille du tétanos* de Nicolaier.

Ces deux organismes, je les ai rencontrés en très grande abondance dans les vases des galeries de filtration de la Compagnie générale des Eaux, à Lyon, et j'ai fait périr, soit de septicémie, soit du tétanos presque tous

[1] Héricourt, Les bacilles courbes des eaux *(Revue d'hygiène*, VIII, 1885).

[2] Emmerich, Ueber die Cholera in Neapel und, etc. *(Archiv für Hygiene*, II, p. 412).

les animaux auxquels j'ai inoculé ces boues[1]. MM. Arloing, Lortet et Despeignes ont eux aussi obtenu des résultats à peu près analogues.

Il ne m'est pas possible de passer ici en revue les très nombreux procédés préconisés par différents auteurs pour la dissociation et la culture des espèces anaérobies; je renvoie, pour cette étude le lecteur aux différents traités de Microbie générale et à la thèse de M. Albert Foureur[2]; je donnerai néanmoins quelques indications suffisantes au sujet des deux espèces dont nous allons poursuivre la mise en évidence dans l'eau.

Recherche du Bacille du tétanos de Nicolaier. — Lorsqu'il s'agit de rechercher ce bacille dans les dépôts ou dans les vases, le moyen peut-être le plus simple consiste à en inoculer quelques centigrammes (10 centigrammes environ pour 100 grammes de poids vif) sous la peau d'une série de rats ou de cobayes. Certains, parmi ces animaux, succombent à la septicémie, et on trouvera le vibrion septique dans leurs différents organes, notamment dans le sang et dans le péritoine; d'autres restent indemnes; d'autres, enfin, périront avec des accidents tétaniques et l'on pourra toujours, en ce cas, constater au lieu d'inoculation, la présence des bacilles caractéristiques qu'il sera dès lors facile de cultiver dans les milieux et avec les moyens appropriés[3].

Mais si c'est dans l'eau qu'il nous faut déceler le bacille de Nicolaier, ce *modus operandi* n'est plus pra-

[1] G. Roux, *Premier rapport technique sur l'analyse microbiologique des eaux de la ville de Lyon* (publication de la ville, 1890).

[2] A. Foureur, *Étude sur la culture des microorganismes anaérobils*, thèse Paris, 1889.

[3] G. Roux, *loc. cit.*, p. 32 et suiv.

tique, car il faudrait, le plus ordinairement, faire pénétrer dans le corps de l'animal, pour le tuer, des doses fantastiques de liquide. Force nous est donc alors d'avoir recours à la méthode des cultures.

J'ai employé maintes fois, à cet effet, le procédé de Hans Buchner[1] qui séduit par sa simplicité et qui consiste tout simplement à placer le tube de culture dans un autre tube hermétiquement fermé avec un bouchon de caoutchouc, et contenant un mélange formé de 1 gramme d'acide pyrogallique sec du commerce et 10 centimètres cubes d'une solution de potasse au 1/10.

L'oxygène de toute l'atmosphère des deux tubes, dont l'interne est simplement bouché à la ouate, est absorbé par la solution alcaline d'acide pyrogallique et se trouve remplacé par un peu d'azote, de l'acide carbonique et une très petite proportion d'oxyde de carbone. J'avoue qu'avec cette méthode je n'ai guère obtenu, sur gélatine, que des espèces facultativement anaérobies, mais jamais d'anaérobies strictes. Aussi me suis-je arrêté au procédé qui utilise le vide produit par une trompe, ou mieux, la pompe à mercure, avec ou sans substitution d'un gaz inerte à l'air atmosphérique ; une très légère modification de mes tubes à essais, sur lesquels on pratique un double étranglement et que l'on scelle à la lampe une fois l'opération terminée, suffit pour cela.

Miquel[2] recommande l'usage des flacons de Freu-

[1] H. Buchner, *Centralbl. f Bakteriol. und Parasit.*, p. 149, 1888. MM. F. et M. Lautenschläger de Berlin ont exposé au dernier Congrès international d'hygiène de Londres un appareil très simple et très commode pour ce genre de recherches. Voir fig. 22 du *First supplement to Bacteriol. microscop., etc.* Catal. I, 1891.

[2] Miquel, *Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux*, p. 96 et suiv., 1891.

denreich ou de tubes à essais de petites dimensions qui renferment de la gelée nutritive ou du bouillon sur une hauteur de 2 centimètres, gelée et bouillon recouverts à leur tour d'une épaisseur égale de *vaseline paraffinée* qui, suivant les températures auxquelles devront être soumises les cultures, sera préparée selon les formules suivantes :

a)	Vaseline.	98
	Paraffine.	2
b)	Vaseline.	90
	Cire blanche.	8
	Paraffine.	2

Cette dernière pour les températures élevées.

Les vases contenant le terrain nutritif ainsi préparé sont placés à l'étuve à 45° centigrades, jusqu'à ce que la couche isolante blanche ait fondu et repris l'apparence d'un liquide parfaitement limpide. Alors, au moyen d'une pipette flambée graduée, très effilée, on porte le liquide à analyser dans la couche nutritive en imprimant à l'effilure un mouvement circulaire lent pendant l'écoulement de l'eau à analyser, de façon à la répartir aussi également que possible dans la gélatine ; il faut toujours avoir soin d'ensemencer, pour la recherche des espèces anaérobies, une quantité d'eau 100 fois plus considérable que pour les aérobies. En ce qui concerne plus particulièrement le bacille du tétanos, Miquel commence par maintenir pendant une heure à 70° centigrades l'eau à analyser, puis il l'ensemence par le procédé qui vient d'être décrit dans de la gélose peptonisée additionnée de 2 pour 100 de sucre. On suit alors avec attention le développement des colonies de couleur blanche et particulièrement de celles qui ont une forme

arborescente (fig. 42). On prélève, au moment opportun, une parcelle d'une semblable colonie, on l'examine

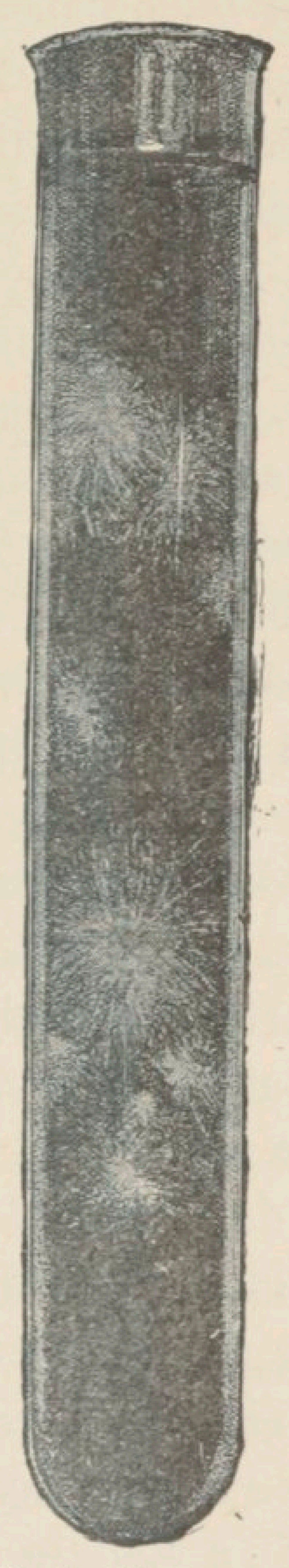


Fig. 42. — Culture du *bacille* du tétanos sur gélatine glucosée, après répartition dans le milieu de la matière d'ensemencement. D'après Fraenkel et Pfeiffer.

au microscope et on l'ensemence, soit dans la gélatine par piqûre, soit dans le bouillon, toujours à l'abri de l'air, bien entendu.

Si c'est bien au microbe de Nicolaier que l'on a affaire, il se présente au microscope sous forme d'un bacille à grosse spore terminale qui lui donne l'aspect d'une courte épingle, et sa culture sur gélatine-piqûre présente l'apparence d'un écouvillon, et n'est pas sans avoir quelque ressemblance avec la culture du bacille du rouget du porc.

En tout cas, l'inoculation aux animaux du bouillon de culture tranchera immédiatement la question de diagnose en déterminant chez eux, à brève échéance, des accidents tétaniques.

D'après Miquel, le bacille de Nicolaier est assez fréquent dans l'eau de la Seine et de la Marne, ainsi que dans les eaux d'égout ; j'ai déjà dit que les eaux du Rhône en laissaient se déposer de notables quantités en même temps que les sédiments d'origine minérale dans les bassins de filtration de Saint-Clair.

M. le professeur Lortet, en étudiant au point de vue bactériologique, des vases provenant de la mer Morte, a constamment obtenu, lui aussi, des cultures fertiles contenant un microbe de la gangrène gazeuse et le bacille du tétanos dont l'identité a été vérifiée par des inoculations positives aux animaux [1].

Recherche du vibrion septique. — Bacillus septicus (Pasteur). — Le vibrion septique se trouve être dans le sol où Pasteur [2] l'a pour la première fois découvert, bien qu'il eût déjà été entrevu, en 1872, par MM. Coze et Feltz [3], le congénère habituel du bacille

[1] Lortet, *Soc. nat. de méd. de Lyon*, séance du 6 juillet 1891.

[2] Pasteur, Sur le vibrion septique (*Bull. Acad. de méd.*, 1877).

[3] Coze et Feltz, *Recherches cliniques et expérimentales sur les maladies infectieuses*, 1872, J.-B. Baillière.

de Nicolaier. Il n'est donc pas étonnant qu'on puisse le rencontrer dans l'eau qui a circulé à la surface du sol et surtout dans les vases et limons où, étant données ses exigences d'anaérobiose, il trouve plus facilement réalisées ses conditions d'existence.

Je ne peux que répéter pour lui ce que je viens de dire du microbe du tétanos, à savoir qu'il est possible et facile de le mettre en évidence dans les dépôts fluviatiles ou autres en inoculant à certains animaux, et notamment aux cobayes, sous la peau, la vase en nature. C'est, du reste, le procédé employé tout d'abord par Pasteur, pour la mise en évidence du bacille septique. La mort arrive rapidement, et à l'autopsie, en outre des lésions classiques, on constate la présence dans le sang et les organes et surtout à la face interne du péritoine des bacilles caractéristiques. Mais nous avons ici un exemple frappant de ce fait bien connu aujourd'hui que l'action pathogène de certains microorganismes est essentiellement liée à leur dose, c'est-à-dire à la quantité d'individus qui ont été introduits à la fois dans l'économie animale.

Aussi, pas plus que pour le tétanos, le procédé des inoculations en nature n'est-il pas applicable à l'eau, alors même que celle-ci renfermerait des espèces éminemment pathogènes, parce que ces espèces y sont trop diluées, trop clairsemées.

J'ai voulu voir, l'année dernière, s'il ne serait pas possible de déterminer par inoculations intra-veineuses, chez le lapin, le coefficient bactério-toxique d'une eau quelconque, comme le professeur Bouchard le premier, et d'autres après lui, l'ont fait pour les urines.

Les résultats auxquels je suis arrivé ont été des plus

contradictoires, et je n'ai rien pu en tirer pour le moment, sinon qu'il était possible d'injecter dans les veines des lapins des eaux très sales, très riches en bactéries et en matières organiques, provenant de l'égout d'un abattoir, sans cependant les tuer guère plus vite qu'avec une eau très pure.

Lorsque donc on voudra rechercher dans une eau le vibrion septique, la méthode des inoculations, utilisable avec les vases, devra être rejetée et il faudra avoir recours aux cultures, en se souvenant toutefois que le *Bacillus septicus* est un anaérobie vrai et qu'il exige pour végéter un milieu absolument dépourvu de toutes traces d'oxygène. Les spores peuvent être exposées à l'air sans pour cela périr, mais elles sont incapables de germer dans ces conditions.

On pourra se servir avec avantage, pour la dissociation de cette bactérie, des différents procédés de culture des anaérobies préconisés par M. E. Roux, de l'Institut Pasteur[1], que l'on trouvera décrits dans les *Annales* de cet Institut. Mais il faut bien savoir que l'on ne trouvera pas dans les cultures artificielles les longs filaments articulés que l'on rencontre dans le sang et surtout à la surface du péritoine des animaux inoculés (fig. 43) et que l'on n'y constatera pas non plus des mouvements aussi nets. Comme ce n'est guère qu'à une température de 37° centigrades que le vibrion septique se développe avec une certaine énergie, on devra, comme milieu nutritif de dissociation, employer la gélose. Les colonies y apparaîtront tout d'abord à l'œil nu, comme de petites taches nuageuses blanchâtres, à

[1] E. Roux, *Annales de l'Institut Pasteur*, I et II, p. 49, 1887, 1888.

bords peu nets, se perdant dans la gelée; à un grossissement de 80 à 100 diamètres, on reconnaît à la colonie

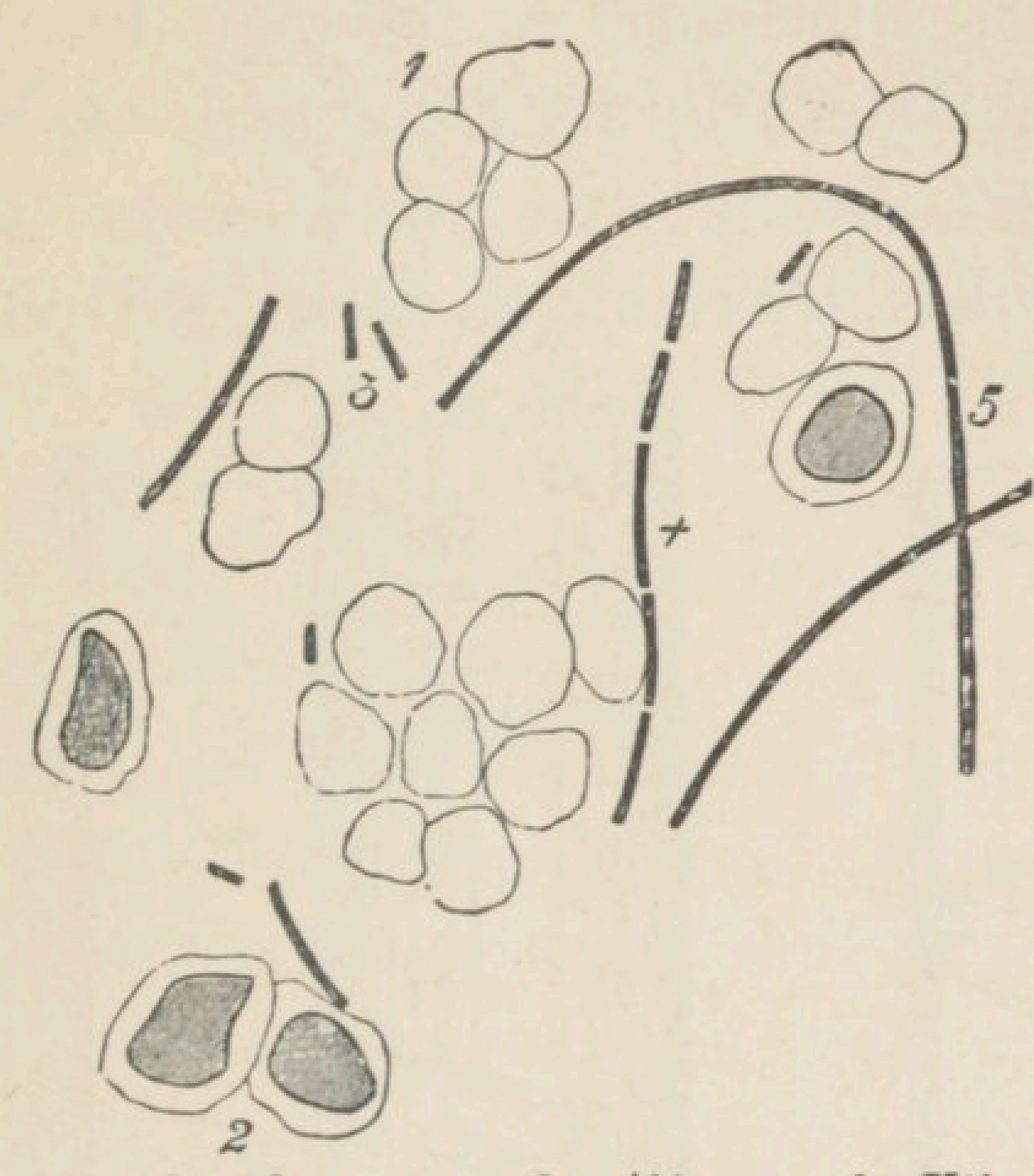


Fig. 43. — Sang de cobaye avec des éléments de *Vibrion septique* en courts articles ou en longs filaments (5) (d'après Koch).



Fig. 44. — *Bacillus septicus.* Colonie isolée dans la gélose, 80/1, d'après Liborius.

(Macé) une partie centrale homogène d'où partent de nombreuses arborisations qui viennent se perdre en s'atténuant dans la gelée ambiante (fig. 44).

En ensemençant dans sa profondeur un tube de gélatine d'après le procédé indiqué par Vignal[1], on observe dans la partie inférieure du tube, au bout de deux à trois jours, à 20° centigrades, de petites sphères de 1/2 à 1 millimètre de diamètre, pleines de liquide clair (fig. 45); celui-ci, très clair au début, se trouble et mon-

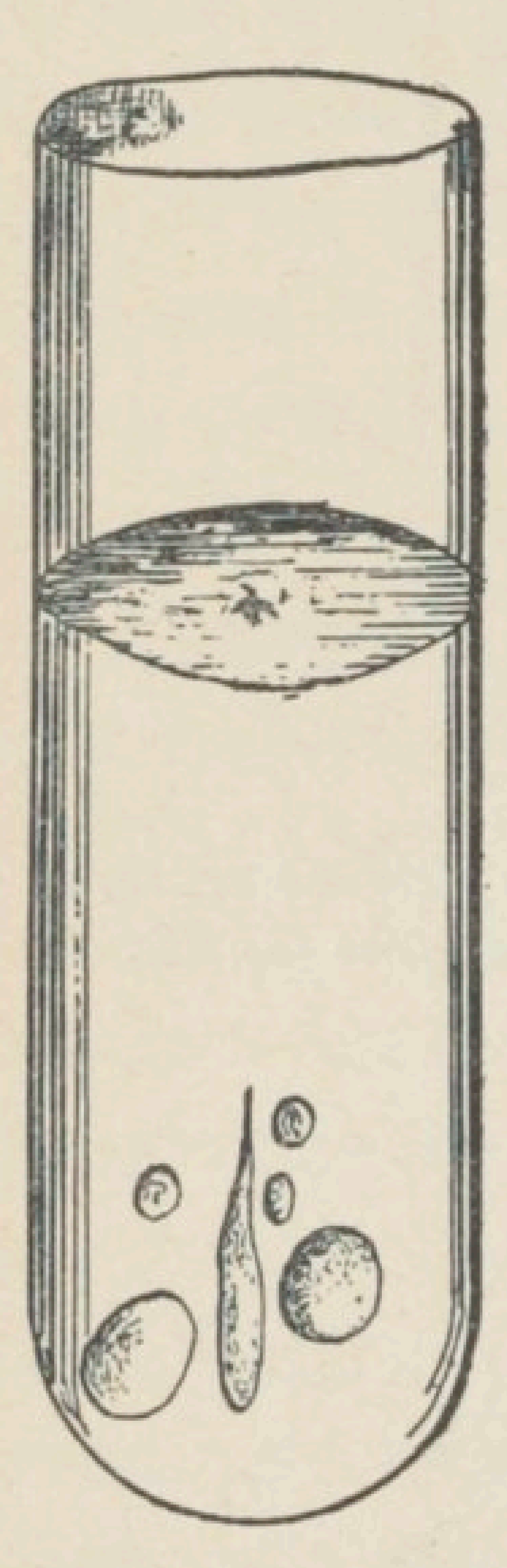


Fig. 45. — Culture de *Bacillus septicus* dans la gélatine.

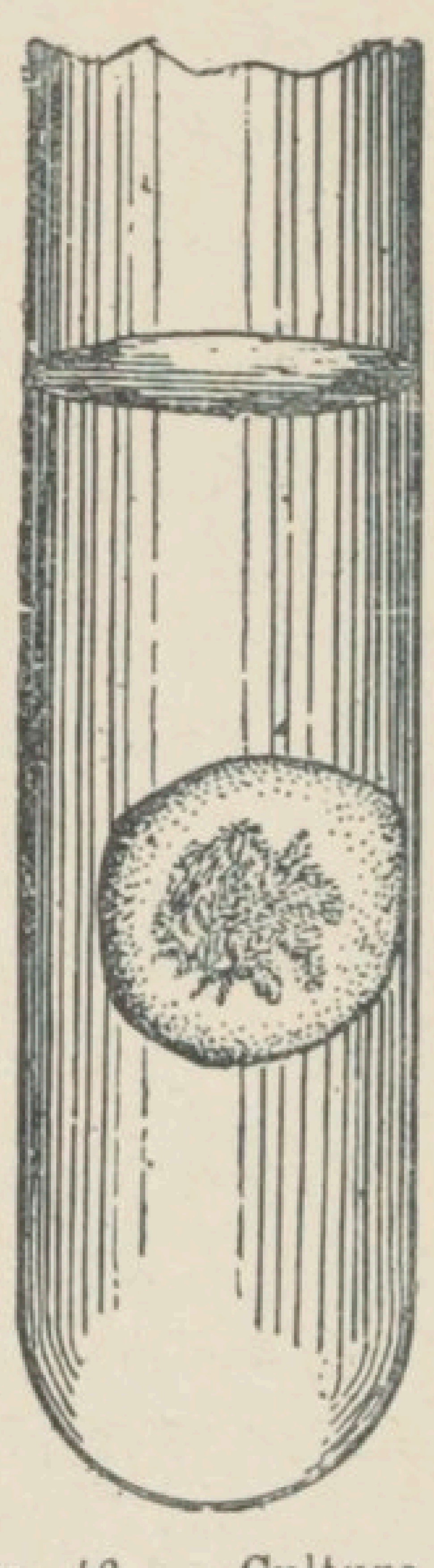


Fig. 46. — Culture plus âgée dans la gélatine.

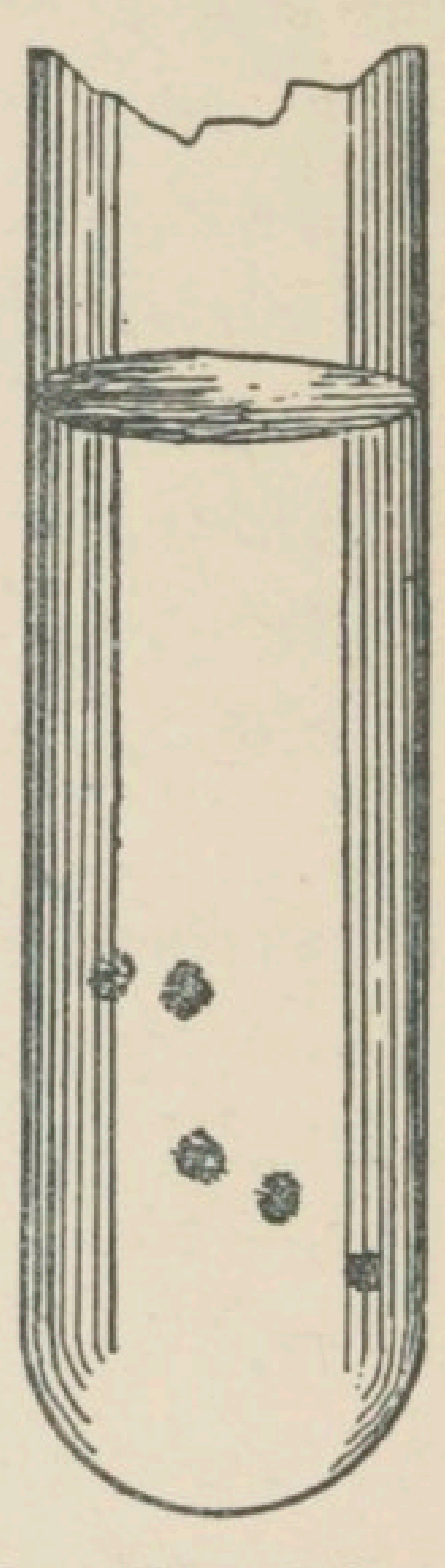


Fig. 47. — Culture dans la gélose d'après Laborius.

tre à la périphérie une fine striation radiaire ou de légères arborisations (fig. 46). Dans la gélose ensemencée de façon identique, les colonies éparses dans la gelée montrent un fin réticulum arborisé, analogue à celui observé dans la gélatine (fig. 47).

[1] Vignal, Sur un moyen d'isolation et de culture des microbes anaérobies *(Annales de l'Institut Pasteur*, I, p. 358, 1887).

DU RÔLE DE L'ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DES EAUX EN HYGIÈNE

En présence de la difficulté presque insurmontable ou l'on se trouve, en l'état actuel de nos connaissances, de mettre en évidence et de déterminer spécifiquement dans les eaux potables la plupart des espèces pathogènes, on a cherché s'il ne serait pas possible de trouver un caractère permettant de discerner les eaux pures des eaux impures.

Tout d'abord, on s'est basé sur le nombre absolu de bactéries ou plutôt de colonies développées dans l'ensemencement de 1 centimètre cube d'eau, par exemple. Mais c'est là un critère des plus infidèles et des plus variables.

Aussi Migula, de Carlsruhe, propose-t-il de substituer à la numération des colonies celle des espèces et notamment des espèces de la putréfaction ; malheureusement, les très nombreuses analyses qu'il a effectuées à ce point de vue, ne paraissent pas donner des conclusions bien évidentes, ni bien sérieuses.

Il faut, maintenant que nous connaissons les différentes manières de procéder pour l'analyse microbiologique de l'eau, quantitative ou qualitative, nous demander en toute sincérité quelle est la valeur de ces deux sortes d'opérations et quels services nous en devons attendre en ce qui concerne l'hygiène publique et privée.

Je vais m'efforcer de répondre à cette question très brièvement d'abord et ensuite en laissant de côté tout parti pris et toute idée préconçue.

Lorsque l'analyse bactériologique des eaux a eu pris rang parmi les connaissances scientifiques et a pu être considérée comme vraiment sérieuse, quelques microbio-

logistes enthousiastes et par trop exclusifs, comme aussi certains hygiénistes trop étroitement pathogénistes, ont poussé en son honneur un cri de victoire et n'ont plus regardé que d'un air de profond dédain le travail des chimistes qui avait jusqu'alors été seul consulté.

L'analyse chimique des eaux, ont proclamé quelques-uns, a vécu, elle ne sert plus qu'à masquer l'ignorance des chimistes sur les véritables caractères d'une eau potable ; elle est absolument incapable de nous renseigner sur le rôle étiologique que peut jouer cette boisson dans la transmission des maladies épidémiques.

A cette déclaration de guerre les chimistes ont répondu sur-le-champ, ainsi que j'ai eu déjà l'occasion de le montrer, par des arguments aussi exagérés, souvent même aussi peu fondés, et les armes dont ils se sont servis leur ont été fournies trop souvent par l'incapacité relative de la nouvelle science, et aussi, il faut bien l'avouer, par les découvertes des bactériologues eux-mêmes.

Combien de microbes pathogènes, vraiment liés à une maladie infectieuse quelconque par des rapports étiologiques ou pathogéniques hors conteste, connaissez-vous ? interrogeaient-ils d'une part, et quelle importance devons-nous attribuer à la présence d'un nombre plus ou moins considérable de bactéries banales dans une eau de boisson, puisqu'il résulte des travaux de Wolffhügel, de Meade-Bolton et de bien d'autres que beaucoup de microorganismes oui ou non nocifs peuvent se multiplier de façon presque incroyable dans toutes les eaux même les plus pures, voire même dans l'eau distillée ?

Et à ces deux questions quelque peu embarrassantes ils pourraient aujourd'hui en ajouter une autre : Etes-vous toujours bien sûrs de la véritable identité des microbes

réputés comme pathogènes que vous avez décelés dans l'eau ? Cette colonie que vous me montrez appartient-elle bien au bacille d'Eberth, par exemple, ou n'est-elle qu'un amas de bacilles pseudo-typhiques sans signification pathologique aucune ? et même dans le cas de l'affirmative ce bacille d'Eberth constitue-t-il vraiment l'agent de la dothiénentérie ?

Il faut avouer que ce n'est pas sans quelque raison que les chimistes acculent ainsi les bactériologues qui ont eu le grand tort de compter parmi eux, trop souvent, des adeptes d'un enthousiasme quelque peu irréfléchi et surtout prématuré.

Il est vraiment incroyable que, en science comme en toutes autres choses du reste, on ne puisse admettre deux vérités à la fois et que fatalement l'une doive chasser l'autre. Comme si dans la nature il existait quelque chose d'absolu, un fait justiciable d'un mode de recherches unique, comme si toutes les branches de la science universelle et particulièrement de la science biologique ne s'enchevêtraient pas les unes avec les autres et ne se rendaient pas le mutuel service de soutiens et de tuteurs !

Pour apprécier la nature bonne ou mauvaise, innocente ou nuisible d'une eau qui doit servir de base à l'alimentation des individus ou des populations, une méthode unique, un seul caractère ne peuvent suffire, et il est sage de recourir à tous les moyens, même les plus minimes, que nous avons à notre disposition.

Rien ne doit être négligé, rien, pas même l'étude, tombée en désuétude aujourd'hui, à tort suivant quelques-uns, de la faune et de la flore macroscopiques et microscopiques des eaux, tant vantée autrefois par

M. Gérardin[1], un maître en ces matières, comme l'appelle M. A. Certes. En constatant dans une eau la présence des algues sans chlorophylle verte et notamment des *Euglènes* et des *Beggiatoa alba* nous saurons déjà que cette eau est corrompue, riche en matières animales décomposées ; plus au contraire les algues seront franchement vertes et de structure compliquée et plus l'eau aura chance d'être pure et potable.

On sait le rôle que l'on a fait jouer pendant longtemps pour l'appréciation de la potabilité d'une eau à la présence du cresson de fontaine ou au contraire de la lentille d'eau. Ces caractères ne sont évidemment pas suffisants, mais ils ne doivent pas pour cela être complètement rejetés avec dédain.

Si donc nous sommes disposés à tenir compte de particularités de si peu d'importance apparente, comment pourrions-nous, sans remords, nous priver des renseignements, précieux à tant de titres, que l'analyse chimique est appelée à nous fournir ? Ce genre d'analyse n'a pas été détrôné et ne peut pas être détrôné par l'analyse biologique ; il constitue un moyen d'information extrêmement utile, nécessite des procédés spéciaux et demande à être mis en action par des techniciens d'un ordre particulier : les chimistes.

L'analyse microbiologique ne doit pas en être considérée comme un succédané, mais bien comme un auxiliaire indispensable et autonome ; elle nous procure

[1] A. Gérardin, Rapport sur l'altération, la corruption et l'assainissement des rivières *(Ann. d'hyg. pub. et de méd. lég.*, 2e série, t. XLIII, 1875). — Voir aussi : Sur les caractères physiques des eaux saines et des eaux insalubres, conférence publiée dans le *Courrier de Versailles et de Seine-et-Oise*, du 30 juillet 1882.

l'occasion d'ajouter de nouvelles connaissances à celles que nous possédions déjà et elle ne peut pas plus être substituée à la première que celle-ci ne peut la remplacer ; elle nécessite elle aussi des procédés et des techniciens spéciaux et je ne vois pas comment et pourquoi une rivalité a pu s'élever entre les deux groupes d'analystes.

Je sais bien, pour ma part, que, si j'avais à m'enquérir pour mon compte personnel de la valeur d'une eau que je serai destiné à boire, je commençerais par en confier un échantillon à un chimiste en même temps que je procéderais moi-même à un examen bactériologique; le premier me renseignerait sur les conditions que l'on pourrait appeler de *potabilité générale*, et je reconnaîtrai, en ce qui me concerne, et entre autres choses, si, oui ou non, l'eau en question renferme des germes d'une maladie transmissible à l'homme, germes, que le chimiste, quelque habile qu'il puisse être, est incapable de déceler avec ses méthodes et sa technique. La tache de ce dernier est assez importante, puisqu'il doit nous dire si une eau est potable ou ne l'est pas, pour que le microbiologiste puisse ensuite, sans mesquine jalousie de part ou d'autre, chercher à démontrer la nocuité ou l'innocence de cette même eau au point de vue tout spécial des microorganismes qu'elle est capable de renfermer.

M. le docteur Gabriel Pouchet[1] cite à ce propos un exemple que je considère comme typique :

« Voici, dit-il, une eau de source fort pure et constituant une boisson des meilleures et des plus agréables ;

[1] Gabriel Pouchet, Étude critique des procédés d'épuration et de stérilisation des eaux de boisson *(Ann. d'hyg. publ. et de méd. lég.*, avril 1891).

à une portion de cette eau on ajoute une petite quantité de bouillon de culture de certaines bactéries *(Bacillus fluorescens putidus*, par exemple, ou simplement du liquide de macération de foin en fermentation) et voilà l'aspect et le goût de cette eau suffisamment altérés pour qu'elle soit rejetée avec dégoût bien qu'elle ne soit pas dangereuse. A une autre portion de cette même eau on ajoute une très faible quantité de bouillon de culture du *bacille typhique* ; voilà une eau qui n'aura rien perdu de son aspect engageant et de ses qualités organoleptiques, mais qui sera devenue une cause d'infection pour ceux qui la boiraient. »

Je peux à ce même point de vue rapporter un fait analogue mais qui n'est point hypothétique comme le précédent.

Un des restaurants les plus renommés de Lyon possédait un puits dont l'eau était si fraîche et si bonne que certaines personnes venaient prendre leurs repas dans cet établissement, de préférence à un tout voisin et aussi renommé, uniquement à cause de cette eau, et, de tous côtés les voisins demandaient à s'alimenter à cette pompe idéale. Or, il advint, il y a deux ans à peine, qu'un très grand nombre de garçons de ce restaurant, qui y prenaient leurs repas et y couchaient, eurent successivement la fièvre typhoïde. Le médecin traitant conseilla au propriétaire de faire analyser l'eau de son puits au double point de vue chimique et bactériologique ; l'analyse chimique constata l'excellence du liquide et confirma sa vieille réputation, mais j'y trouvai une quantité énorme de *Bacillus coli communis* qui témoignait d'une communication certaine du puits avec la fosse d'aisance qui du reste était voisine ; je ne pus, il

est vrai, déceler la présence de véritables bacilles d'Eberth, mais je n'en conseillai pas moins la réfection complète du puits ou sa fermeture; mon avis fut suivi et depuis il n'y a pas eu, à ma connaissance, de nouveaux cas de dothiénentérie dans cet établissement.

Ce fait, pris entre mille autres, et que je signale parce qu'il m'est personnel, montre bien la différence fondamentale qui existe entre les données de l'analyse chimique et celles de l'analyse bactériologique.

Les deux peuvent être discordantes comme elles peuvent aussi se compléter l'une l'autre ; elles ne font pas, en tout cas, double emploi, et n'auraient pas dû fournir matière à controverse.

Ce qui a, je crois, été cause du différend et du malentendu c'est ceci : lors de la découverte des microbes pathogènes et de la constatation de certains d'entre eux dans les eaux de boisson, on s'est laissé éblouir en quelque sorte par la prédominance du rôle de l'agent animé pathogène, et quelques hygiénistes, par trop médecins, ont été entraînés à ne plus voir dans les eaux que deux grandes catégories : celles capables de *donner une maladie* et celles qui, à ce point de vue tout spécial, étaient heureusement impuissantes. On a depuis quelques années une trop grande tendance à ne plus considérer l'eau à un point de vue *physiologique*, mais à ne tenir compte que de ses propriétés oui ou non *pathogènes*. C'est là une grave erreur qui est en partie due à ce que la grande majorité des bactériologues actuels sont des médecins et des médecins d'hôpitaux qui, malgré eux, inconsciemment, sacrifient trop à l'objet constant de leurs préoccupations ; le malade et la maladie.

Je sais bien que, en somme, le but de l'hygiéniste en

faisant boire à l'homme de l'eau de bonne qualité, est précisément de le préserver des maladies qu'un liquide malsain pourrait occasionner. Mais ces maladies ne sont pas toutes fatalement microbiennes, elles peuvent tenir non pas à la présence dans l'eau de tel ou tel microorganisme, mais bien à ses qualités d'ordre physique ou chimique; c'est là un côté de la question qu'il ne faut pas perdre complètement de vue et qui précisément est du ressort des chimistes. On sait combien l'eau distillée est peu digestible. Je me demande en quel état se trouverait bientôt l'estomac de celui qui ne boirait jamais que de l'eau distillée stérilisée.

Nous constatons encore une fois ici ce travers trop fréquent de l'exclusivisme, en quelque sorte professionnel, qui pour le bactériologue se traduit par ce fait qu'il voit, comme on l'en a avec assez de justesse accusé, le microbe partout.

En ce qui concerne les eaux, les conséquences de ce travers transformé en principe n'ont pas tardé à se faire sentir sous la forme d'une exigence que, pour ma part, je considère dans la pratique comme presque constamment irréalisable : à savoir que l'alimentation en eau potable des grandes agglomérations humaines doit être faite au moyen d'un *liquide microbiquement pur, absolument aseptique* et que la seule eau méritant les suffrages de l'hygiéniste est celle qui possède 0 bactérie. Certaines eaux résiduelles des grandes industries réalisent parfois ce *desideratum*, mais personne, que je sache, n'en voudrait boire.

Quant aux eaux de sources, pures, captées avec le plus grand soin, je doute fort qu'elles puissent parcourir, même en canalisation parfaitement close et étanche, un

long trajet, sans arriver contaminées (ce mot pris dans le sens de : pourvues de microbes), au lieu de leur consommation, sans compter qu'elles se souilleront certainement dans les récipients, si propres soient-ils, dans lesquels on les recueillera. L'eau de boisson *amicrobique* constitue donc, c'est ma conviction, un idéal qui ne peut d'une part être réalisé, sinon à titre tout à fait exceptionnel, et dont, d'autre part, je ne comprends pas bien l'utilité ni l'importance.

Mais il y a des degrés, et si une eau pourvue de microbes peut être excellente, il ne faudrait pas cependant que sa richesse bactérienne fût par trop excessive.

Quelles sont, en résumé, les indications que nous pouvons retirer soit de l'analyse microbiologique quantitative, soit de la qualitative ? J'ai déjà fait prévoir que les résultats fournis par cette dernière sont de beaucoup les plus importants et les plus directement utilisables. Mais est-ce à dire que l'analyse quantitative soit absolument inutile et dépourvue de toute espèce d'intérêt ?

C'est ce que nous allons maintenant rapidement examiner.

Y a-t-il à tenir un très grand compte du nombre absolu de microorganismes contenus dans une quantité déterminée d'eau, 1 centimètre cube par exemple ? et peut-on baser sur les différents chiffres obtenus une échelle de potabilité ou de nocivité analogue à celle qu'a dressé, pour les corps chimiques, le Comité consultatif d'hygiène de France ?

Les opinions sont très partagées au sujet du nombre maximum de bactéries que doit renfermer une bonne eau potable.

La plupart des bactériologues admettent que le chiffre

maximum qui ne doit pas être dépassé est de 500 par centimètre cube.

Miquel[1] a dressé une échelle indiquant de façon approximative, par multiples de 10 afin de mieux graver les chiffres dans la mémoire, quelle doit être la teneur en bactéries des différentes catégories d'eau :

	Bactéries par cent. cub
Eau excessivement pure.	0 à 10
— très pure.	10 à 100
— pure	100 à 1000
— médiocre.	1000 à 10.000
— impure	10.000 à 100.000
— très impure.	100.000 et au delà.

Or, les eaux de Paris présentant les richesses moyennes suivantes :

	Bactéries par cent. cub.
Vanne.	800
Dhuis.	1890
Seine à Ivry.	32.500
Marne à Saint-Maur.	36.300

On voit que les eaux de la Vanne sont comprises dans la catégorie des eaux pures, celles de la Dhuis dans la catégorie des eaux médiocres, celles enfin de la Seine et de la Marne doivent être considérées comme impures.

Les Lyonnais sont infiniment mieux partagés, surtout en ce qui concerne les eaux du Rhône qui, filtrées à travers un banc de sable et de graviers, constituent leur eau potable. Nous avons, en effet, comme richesse moyenne de ces eaux en bactéries[2] :

[1] Miquel, *Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux*, p. 129, Paris, 1891.

[2] G. Roux, *Analyse microbiologique des eaux de la Compagnie* (Rapport à M. le maire de Lyon, 1890).

	Bactéries par cent. cub
Rhône (en amont de Lyon).	75
Bassin filtrant n° 1.	7
Réservoir du bas service.	18
Réservoir du service supérieur	26
Eau du robinet d'alimentation.	60
Rhône (en aval de Lyon).	800

Cette eau, on le voit, puisée en n'importe quel point, reste constamment dans la catégorie des eaux qui sont bonnes, même à la sortie de la ville, et l'un de ses échantillons, celui qui provient du bassin de filtration, répond aux conditions exigées par Miquel, pour mériter l'épithète d'*excessivemeut pure*. Les eaux de la Saône sont beaucoup plus polluées, ce qui n'a rien d'étonnant, étant donné leur cours peu rapide ; elles le sont infiniment moins cependant que celles de la Seine et de la Marne, et en amont de la ville elles sont même moins riches en microorganismes que celles de la Vanne :

	Bactéries par cent. cub.
Saône (en amont de Lyon).	586
Saône (pont Mouton).	1.594
Saône (pont Tilsitt).	860
Saône (en aval de Lyon).	4.280

Les chiffres ci-dessus se rapportent à des analyses qui ont été effectuées en novembre 1890 alors que la rivière se trouvait en régime normal[1].

Ce sont là deux points qu'il ne faut jamais manquer de préciser lorsqu'on donne les résultats d'une analyse

[1] Les chiffres que je donne ici pour la Saône sont les moyennes d'un très grand nombre d'analyses effectuées à titre d'épreuve pratique lors de mon concours pour la direction du bureau d'hygiène de la ville de Lyon. Les résultats de ces analyses sont encore inédits, mais ne tarderont pas à être publiés.

bactériologique, la teneur en microbes d'une eau pouvant varier dans des proportions énormes suivant la saison et l'état de hautes ou de basses eaux, de telle sorte qu'un liquide de même origine pourra successivement être considéré comme très pur, pur ou médiocre, ainsi qu'en témoigne la série d'analyses suivantes pratiquées par Miquel [1] :

Année 1890 (Vanne au réservoir de Montrouge.)

	Bactéries par cent. cub.
Analyse du 29 juillet 1890.	50
— du 25 février —	100
— du 23 mai —	500
— du 6 juin —	1.000
— du 8 juillet —	5.900
— du 1er août —	14.000

Année 1890 (Seine à l'usine d'Ivry).

	Bactéries par cent. cub.
Analyse du 19 mai 1890.	4.000
— du 2 juin —	12.000
— du 3 mars —	40.000
— du 6 janvier.	128.000

Mais, fait curieux et qui semble au premier abord paradoxal, c'est en hiver et en automne que les eaux de source ou de rivière sont le plus chargées de microorganismes et, au contraire, c'est en été qu'elles sont le plus pures, ainsi que cela résulte des très nombreuses analyses faites par Miquel ; il n'existe donc aucune relation entre la température des eaux et leur richesse en bactéries.

[1] Miquel, *loc. cit.*, p. 130.

On voit donc que, soit en raison du peu de fixité de la richesse bactérienne d'une eau donnée, soit parce que les chiffres des colonies microbiennes peuvent osciller dans de très larges limites d'une eau potable à celle qui ne l'est plus, il est assez difficile au microbiologiste de se prononcer sur la nature et les qualités d'une eau de boisson s'il n'a à sa disposition qu'une seule série d'analyses pratiquées à la même époque ; tout au plus pourrait-il se faire plus facilement une conviction s'il avait suivi mois par mois, par exemple, les oscillations microbiennes d'un cours d'eau, d'un puits ou d'une citerne destinés à l'alimentation. Et cependant, ce n'est en somme qu'exceptionnellement qu'il rencontrera dans une eau soumise à son appréciation des microorganismes franchement pathogènes et il sera bien obligé, en ce cas, de baser ses conclusions en grande partie sur les résultats de l'analyse quantitative ; je dis avec restriction : en grande partie, parce que, même en cette occurrence, il devra faire entrer en ligne de compte dans sa réponse les renseignements obtenus grâce à l'analyse qualitative ; celle-ci en effet, lui apprendra si oui ou non les espèces de la putréfaction sont rares ou abondantes, si, par leur existence en grande quantité, les commensaux habituels du sol témoignent d'une filtration défectueuse ou de fissures dans la canalisation, etc.

Quant à la question de savoir si la nocivité d'une eau quelconque peut être attribuée au nombre des bactéries banales rencontrées dans cette eau, voici comment à ce propos s'est exprimé Koch, en 1885, à la conférence du choléra de Berlin : « Jusqu'à présent, on a jugé l'eau d'après sa composition chimique, et on l'a déclarée mauvaise quand des proportions fixées arbitrairement étaient

dépassées. On ne peut plus maintenant se contenter d'un examen purement chimique, surtout quand il s'agit de savoir si l'eau renferme oui ou non des éléments d'infection et si on n'a pas à craindre une pollution éventuelle par ces éléments. Or, comme tous les éléments d'infection que nous avons appris à connaître jusqu'ici sont constitués par des microorganismes, *la quantité de microorganismes contenus dans l'eau a naturellement la plus grande importance pour juger de sa qualité*. En effet, même si on n'arrive pas à trouver dans l'eau *les germes infectieux eux-mêmes* lesquels sont peut-être en très petit nombre, une *grande abondance de microbes* indique néanmoins que l'eau a été contaminée par des matières en décomposition, riches en microbes qui peuvent parfois renfermer parmi beaucoup de bactéries inoffensives des éléments pathogènes ou infectieux. »

Ce ne serait donc pas l'abondance elle-même des microbes qui serait nuisible, mais elle devrait être tenue pour suspecte, parce qu'elle indiquerait un milieu de culture extrêmement favorable au développement des bactéries et pouvant éventuellement recevoir et faire prospérer des germes infectieux.

Depuis l'époque où Koch prononçait les paroles que je viens de rapporter, la question est entrée dans une phase nouvelle et les bactériologues se sont préoccupés non plus seulement du *nombre absolu des individus* microbiens existant dans une eau, mais du *nombre relatif d'espèces* qui en constituent pour ainsi dire la flore bactérienne.

Migula, de Carlsruhe, a, dans cet ordre d'idées, fait une série de recherches et publié un important mémoire

dont je crois devoir donner ici, pour l'édification du lecteur, un court résumé [1].

Il débute en ces termes qui précisent bien les données du problème : « De grands progrès ont été réalisés dans ces dernières années en ce qui concerne l'étude des bactéries pathogènes, mais par contre les espèces saprophytes ont été relativement négligées, soit au point de vue de leur systématisation, soit à celui de leur biologie, et cependant c'est précisément cette dernière étude qui seule peut permettre d'apprécier microbiquement une eau potable. La numération des colonies sur laquelle on se base encore assez souvent est insuffisante comme l'ont démontré les travaux de Wolffhügel, Meade Bolton et autres, car un certain nombre des bactéries les plus inoffensives peuvent se multiplier d'une façon incroyable dans toutes les eaux, *même dans l'eau distillée*. Les courtes indications qui suivent constituent une partie de recherches considérables, non encore terminées sur ce sujet ; elles sont destinées à démontrer que *le nombre des espèces est beaucoup plus important que celui des colonies* contenues dans un centimètre cube pour l'appréciation biologique de l'eau potable. »

Les recherches de Migula ont porté à l'heure actuelle sur quatre cents analyses bactériologiques d'eau, pratiquées, ainsi que je l'ai déjà dit, suivant la méthode de Koch (avec la modification apportée par Rietsch et Petri) ; elles ont mis en lumière ce fait assez inattendu qu'un nombre relativement considérable des eaux exa-

[1] Dr W. Migula (in Karlsruhe), Die Artzahlder Bakterien bei der Beurtheilung des Trinkwassers *(Centralbl. für Bakteriol. und Parasit.*, VIII Band, n° 12, 12 septembre 1890).

minées, 87 sur 400, soit 21,75 pour 100, ne renfermaient que 1 à 4 espèces bactériennes et que même 21 sur 400, c'est-à-dire 5,25 pour 100 ne possédaient qu'une espèce unique. Le reste, c'est-à-dire 313 sources ou fontaines, soit 78,25 pour 100 du nombre total contenaient de 5 à 10 espèces différentes, et cela suivant une progression assez régulièrement ascendante ; enfin, 59 échantillons d'eaux ou 14,75 pour 100 avaient plus de 10 espèces. Or, d'après Migula, si l'on trouve plus de 10 espèces dans un centimètre cube d'eau, on doit admettre que cette eau est plus ou moins contaminée par des substances organiques et impures, et dans ce cas, les bactéries de la putréfaction prédominent.

Il y a en outre une relation en quelque sorte inverse entre le nombre des colonies développées par centimètre cube et celui des espèces microbiennes existantes. C'est ainsi que dans les tableaux fournis par le bactériologue de Carlsruhe, nous voyons pour 50 colonies développées : 4 fois une seule espèce, 5 fois 2, 6 fois 3, 5 fois 4, 3 fois 5, 2 fois 6, 3 fois 7, 2 fois 8, 3 fois 9, 1 fois 10, et enfin 0 fois un nombre supérieur à 10, tandis qu'au contraire là où l'on pouvait compter de 10.000 à 50.000 colonies par centimètre cube, nous constatons que l'on n'a jamais trouvé moins de 4 espèces et la progression devient la suivante : 1,2, 1,2, 4,5, 4,7.

Le lecteur, que cette question intéresse trouvera, résumés dans le mémoire de Migula sous forme de tableaux les divers résultats de ses analyses, pratiquées en 1888 et 1889, sur des échantillons d'eau provenant de Baden et de la Silésie.

On y verra qu'au point de vue purement quantitatif 1/10 seulement des eaux examinées peuvent être consi-

dérées comme bonnes (en admettant la proportion de 50 à 500 colonies par centimètre cube), tandis qu'au point de vue du nombre des espèces, si l'on regarde le chiffre 10 comme l'extrême limite que ne doit pas dépasser une bonne eau potable, il n'y a pas tout à fait 1/8 des échantillons qui peuvent être désignés comme mauvais et impurs.

Certains, parmi ces tableaux, nous donnent encore d'intéressants renseignements sur la flore bactérienne spéciale à chaque catégorie d'eaux : stagnantes ou courantes. Aux premières appartiennent plus particulièrement: *Micrococcus ureæ*, *M. cinnabareus*, *Bacillus fluorescens putidus*, *B. erythrosporus*, *B. fluorescens liquefaciens*, *B. ureæ*, *B. mesentericus fuscus*, *B. mesentericus vulgatus*, *B. tremulus*, etc.; tandis que les secondes sont caractérisées par *M. coronatus*, *M. radiatus*, *M. viticulosus*, *M. luteus*, *B. luteus*, etc.

D'une façon générale, les eaux courantes et surtout les sources de montagnes sont moins riches en bactéries de toutes sortes que les autres.

Il nous faut noter aussi, parce que cette observation a un très grand intérêt pratique, que les microbes de la putréfaction peuvent se rencontrer dans une eau qui ne renferme qu'un nombre relativement faible de colonies, mais qu'ils sont à leur maximum quand le nombre des espèces est le plus considérable ; aussi n'est-il pas étonnant qu'ils soient à leur minimum ou même fassent presque complètement défaut dans la plupart des eaux courantes ; il peut au premier abord, paraître plus étonnant qu'il en soit de même lorsque le nombre des colonies quelconques dépassent 10.000 par centimètre cube ; c'est avec une teneur de 1000 à 10.000

germes par centimètre cube, qu'ils sont les plus abondants.

En somme, les recherches de Migula ont le grand mérite de tracer une voie nouvelle aux chercheurs, et, bien que l'occasion et le temps m'aient manqué pour vérifier leur bien fondé, je ne doute pas que, poursuivies systématiquement par les bactériologues, elles ne rendent à l'analyse microbiologique des eaux un signalé service en fixant, mieux que cela n'a été fait jusqu'à présent, dans les cas où les bactéries vraiment pathogènes font défaut, les conditions biologiques d'une eau potable.

Une méthode basée sur de semblables errements tiendrait en quelque sorte le milieu entre l'analyse quantitative et la qualitative, tout en participant de l'une et de l'autre, et, plus facile à exécuter que cette dernière, pourrait nous éclairer rapidement dans les cas assez nombreux où une solution hâtive est demandée au microbiologiste.

On me demandera peut-être maintenant que j'ai exposé les procédés variés employés par les différents auteurs dans l'analyse microbiologique quantitative de l'eau, quelle est la valeur relative de chacun d'entre eux et quel est celui que je conseille de préférence.

J'avais tout d'abord pensé à consacrer un chapitre tout entier à l'examen critique des diverses méthodes décrites ; j'y ai renoncé au dernier moment pour plusieurs raisons dont la principale est que le promoteur et le défenseur acharné de l'une d'entre elles, la première en date, celle des cultures dans des milieux liquides, paraît s'être enfin rangé à l'avis commun. Miquel, en effet, dans le tout récent livre qu'il vient de publier sur *l'Analyse*

bactériologique des eaux ne fait que citer le procédé de dilution et de culture dans les liquides qui porte son nom et en faveur duquel il a cependant depuis nombre d'années rompu tant de lances; il reconnaît, tout le premier aujourd'hui, combien longs, compliqués et coûteux sont ses procédés, et tout en proclamant leur supériorité, il semble les abandonner pour s'attacher surtout à la description des méthodes rivales sur milieux solides. Cette évolution du savant bactériologue de Montsouris facilite singulièrement ma tâche et me permet d'être très bref alors que je craignais au contraire d'être obligé d'entrer dans de trop longs développements.

Je dirai seulement ceci : Les procédés de culture dans les liquides permettent-ils de déceler tous les microorganismes des eaux, *tous sans exception*? si oui, je serais le premier à blamer Miquel de ne pas avoir jusqu'au bout soutenu sa manière de voir ; si non, il ne s'agit ici que d'une question de degré et la méthode des solides, plus simple, plus prompte et infiniment moins coûteuse peut être adoptée en toute conscience.

Or la réponse à la question précédente doit être négative; non, il n'est pas possible à l'heure actuelle, par l'un quelconque des procédés préconisés, pas plus avec les bouillons qu'avec la gélatine, de mettre en évidence dans une série unique d'opérations, toutes les bactéries aérobies que renferme une eau. Qu'on en décèle un peu plus avec les liquides qu'avec les solides, en raison surtout des conditions plus favorables de température, cela est possible dans un grand nombre de cas, et l'expérience m'a démontré que ce n'était même pas dans tous. La supériorité de la méthode préconisée par Miquel n'est donc que relative et n'est pas de nature à contrebalancer les

avantages incontestables des cultures sur les solides, avantages que j'ai déjà énoncés en partie au cours de cet ouvrage.

Je donnerai donc la préférence aux solides, à moins de circonstances toutes particulières que chacun devra apprécier. Quant à me prononcer pour l'un ou pour l'autre des divers procédés décrits, je ne le ferai pas, par ce que j'estime que tous sont bons lorsqu'ils sont employés par des gens instruits, habiles, soigneux et consciencieux, à la condition toutefois que l'on use largement, mais avec discernement, du principe des dilutions qui est indispensable à la réussite.

Un des grands reproches que l'on a faits à la gélatine comme substratum nutritif consiste dans la numération hâtive des bactéries, nécessitée par l'apparition et l'extension des colonies liquéfiantes, et ce reproche est fondé, mais il peut être singulièrement atténué si l'on a soin d'employer des dilutions convenables et d'user des quelques artifices que j'ai indiqués.

Il résulte de l'examen comparé d'un très grand nombre de mes analyses, que le nombre des colonies comptées au septième jour (c'est le chiffre que j'ai adopté comme type) est à celui des colonies comptées au dixième, douzième et même au dix-septième jour comme 63 est à 73; il faudra donc, pour avoir le nombre exact ou à peu près exact des microorganismes réellement présents dans une eau, majorer dans une proportion voisine de celle que je viens d'indiquer le chiffre donné par la numération pratiquée au septième jour après l'ensemencement.

Je répéterai enfin ce que je disais au début de ce livre : ne demandons à l'analyse bactériologique des

eaux que ce qu'elle peut donner a l'heure présente, et cela est déjà assez important pour que nous ne poussions pas plus loin des exigences qui, au reste, ne sauraient aboutir pour l'instant.

A l'avenir seul appartient le perfectionnement des méthodes et des résultats. Ayons donc confiance et travaillons à la réalisation de nos vœux!

Je n'ai maintenant que bien peu de choses à ajouter en ce qui concerne l'utilité et l'importance de l'analyse qualitative. Il serait vraiment puéril de faire ressortir les services rendus aux particuliers ou aux populations par l'analyste qui découvre dans leur eau d'alimentation le bacille de la fièvre typhoïde, celui du choléra ou tel autre microorganisme étroitement lié à l'étiologie d'une maladie infectieuse quelconque. Ce genre de recherches prime tous les autres ; c'est celui qui est appelé au plus brillant avenir et c'est vers son perfectionnement que convergent et doivent converger de plus en plus les études et les tentatives des bactériologues pratiques.

Pour résumer cet examen critique, je dirai :

1° *L'analyse quantitative* doit toujours précéder les autres, quand ce ne serait que dans le but d'isoler les unes des autres les espèces microbiennes de l'eau ; elle nous fournit au reste déjà de précieuses indications qui ne demandent qu'à être sainement et consciencieusement interprétées.

Le grand *desideratum* doit être ici de pouvoir, d'une part, faire développer tous les germes, sans exception, susceptibles de végétation et trouver pour cela un ou des milieux nutritifs appropriés, et de mettre, d'autre part, en évidence les bactéries anaérobies aussi facilement que les aérobies.

2° *L'analyse qualitative* est indispensable pour la sérieuse appréciation de la valeur d'une eau, tant au point de vue de sa potabilité générale que de son pouvoir infectieux possible ; les procédés qu'elle emploie demandent à être perfectionnés et appellent toute la sollicitude du bactériologue.

Ce qu'on pourrait nommer enfin l'*analyse qualitative-quantitative*, qui est surtout destinée à bien mettre en relief le nombre d'espèces contenues dans chaque eau, paraît avoir une extrême importance et mériterait d'être toujours appliquée systématiquement.

CHAPITRE IX

DESCRIPTION DES ESPÈCES BACTÉRIENNES DES EAUX

Description sommaire et diagnose des espèces bactériennes des eaux. — Difficulté d'établir une classification naturelle et définitive. — Coccacées. — Bactériacées. — Beggiatoacées. — Microbes liquéfiant ou ne liquéfiant pas la gélatine, produisant ou ne produisant pas de matière colorante. — Saprophytes et pathogènes.

Description sommaire et diagnose des espèces bactériennes qui vivent normalement ou ont été accidentellement trouvées dans l'eau. — Jusqu'à présent, les auteurs français qui, dans des ouvrages de microbiologie générale, ont eu à s'occuper des bactéries aquatiles, se sont contentés de donner la liste très incomplète de quelques-unes d'entre elles et n'ont pas ou ont très peu insisté sur les caractères de cultures permettant de les différencier les unes des autres. Il n'y a guère que dans le *Traité pratique de bactériologie* de Macé, de Nancy, que l'on trouve de bonnes descriptions de la plupart de ces espèces.

J'ai été aidé, dans mon entreprise de présenter au public une flore microbiologique des eaux, par les livres de Lustig [1] et d'Eisenberg [2]. Ce dernier a eu soin, dans sa

[1] A. Lustig, *Diagnostica dei Batteri delle acque*, etc., Torino, 1890.
[2] J. Eisenberg, *Bakteriologische Diagnostik*, 3e édit., Hamburg und Leipzig, 1891.

table générale des matières, de grouper ensemble les microorganismes de l'eau, mais en commettant quelques omissions. J'ai également mis à profit des mémoires particuliers, comme ceux de Tils, Migula, Almquist, et j'ai cherché, en empruntant aux uns et aux autres, à présenter un tableau aussi complet que possible de la flore bactérienne aquatique. Comme il ne m'était pas possible de présenter, pour chaque espèce, tous les caractères d'ordre morphologique ou biologique qui peuvent servir à leur diagnose, je me suis contenté d'insister surtout sur la forme de chaque individu, ses dimensions, son état de mobilité ou d'immobilité et sur l'aspect que présentent ses colonies sur les plaques de gélatine, puisque c'est la méthode plus ou moins modifiée des plaques qui, aujourd'hui, est à peu près universellement adoptée par les bactériologues ; j'y ai joint, lorsque je l'ai pu, afin d'être utile aussi à ceux qui emploient les milieux liquides, les caractères tirés de la culture dans le bouillon. Je n'ai jamais manqué, enfin, dans le but d'éviter toute confusion, de joindre au nom de chaque espèce, le nom de celui qui l'a le premier décrite, suivant en cela les errements des botanistes.

Je regrette de n'avoir pu, comme ces derniers, faire usage de tableaux de diagnose, et notamment du système des clefs dichotomiques, mais l'étude taxinomique des bactéries n'est pas encore assez avancée pour que l'on puisse, avec succès, employer de tels procédés, et j'ai dû y renoncer.

Miquel a bien donné un essai de flore et tenté quelque chose d'analogue à une clef permettant d'arriver, sinon à l'espèce ou même au genre, du moins à un groupe assez étroitement limité, mais je doute fort que, dans la

pratique, sa tentative puisse rendre de grands services, surtout aux débutants, et je la considère comme prématurée. Un caractère qui, de prime abord, semble avoir une assez grande valeur pour la différenciation des colonies, parce qu'il est très apparent et facilement constatable, c'est la couleur qu'affecte, sur les milieux solides, chaque colonie. Telle est blanche, telle autre jaune, telle encore rouge, etc. On pourrait espérer, en tenant compte de ces propriétés chromogènes si variées et si tranchées, arriver à établir de grandes coupes, artificielles, il est vrai, mais des plus commodes à distinguer. Malheureusement, ces colorations varient avec l'âge de la colonie et peuvent ainsi passer, en quelques jours, du blanc plus ou moins pur au rouge ou au violet ; elles varient aussi suivant que la colonie est développée à la surface ou dans la profondeur de la gélatine ; elles sont, par conséquent, capables d'amener des confusions dans l'esprit de l'analyste novice et de causer des erreurs de détermination.

J'ai cru néanmoins, malgré ces imperfections, devoir, à l'exemple d'Eisenberg, de Lustig, etc., conserver la division basée sur la propriété chromogène, à la condition que l'on soit mis en garde sur sa valeur absolue.

Bien préférable est le caractère tiré de la liquéfaction de la gélatine nutritive qui a permis à Eisenberg et à Lustig d'établir des divisions fondamentales. Et encore, je dois le reconnaître, il y a ici parfois quelque indécision, certaines colonies ne fluidifiant que très tardivement la gélatine, ce qui pourrait les faire placer, au début, parmi les non-liquéfiantes, et certaines autres se comportant à ce point de vue de façon assez variable, suivant leur état de vitalité, de jeunesse ou de vieil-

lesse, etc., fluidifiant dans certains cas, ne fluidifiant pas dans d'autres. Il en est de ce signe comme de tant d'autres : considéré au début comme excellent et comme formel, il est, aujourd'hui, devenu des plus aléatoires ; je le conserverai néanmoins, en ayant bien soin d'indiquer, pour chaque espèce, si la liquéfaction de la gélatine s'opère hâtivement ou lentement.

Un dernier caractère enfin, et le plus important de tous sans contredit, est adopté par tous les auteurs ; il ne peut malheureusement être constaté qu'à la suite d'opérations longues et laborieuses, c'est celui du *pathogénisme*, si je peux m'exprimer ainsi, de certaines bactéries qui, soit chez l'homme, soit chez les animaux, provoquent des accidents, la maladie et parfois la mort.

Certaines espèces bien déterminées peuvent d'emblée être mises dans ce groupe sans expérimentation préalable, comme, par exemple, le microbe orangé (de la suppuration, du furoncle, de l'ostéomyélite), le bacille d'Eberth (de la fièvre typhoïde) dont la diagnose, nous l'avons vu, n'est cependant pas toujours très facile, etc.

Quant aux autres, pour peu que leur identité ne soit pas absolument certaine, l'inoculation aux animaux, et à des animaux variés, est indispensable pour fixer le bactériologue sur leur véritable nature.

J'ai donc suivi, dans l'énumération accompagnée de quelques détails morphologiques ou biologiques, des espèces microbiennes aquatiles, l'ordre adopté par Eisenberg, mais j'ai eu soin de combler, chemin faisant, les lacunes assez nombreuses, dont quelques-unes inexplicables, qui se remarquent dans la liste des bactéries de l'eau donnée par cet auteur.

J'ai notamment ajouté un certain nombre d'espèces appartenant aux genres *Cladothrix*, *Streptothrix* et *Spirillum*, dont j'ai emprunté la description soit à Lustig, soit à Almquist, soit à mes propres travaux. J'ai signalé enfin quelques espèces nouvelles décrites tout récemment par M. Edwin O. Jordan dans un intéressant volume de recherches expérimentales sur les eaux d'égout du Massachusetts[1].

Comme classification générale, je suivrai celle qui a été adoptée, tout au moins à titre temporaire, par Macé[2], dans laquelle le groupe des Bactéries est divisé en trois familles qui me paraissent d'autant plus naturelles que les affinités y sont davantage conservées. Je ne citerai et ne figurerai ici, dans chacune d'elles, que les genres dont les représentants ont été rencontrés dans l'eau.

1° *Famille des Coccacées.*

GENRES. — Micrococcus (fig. 48) ;
Sarcina (fig. 49).

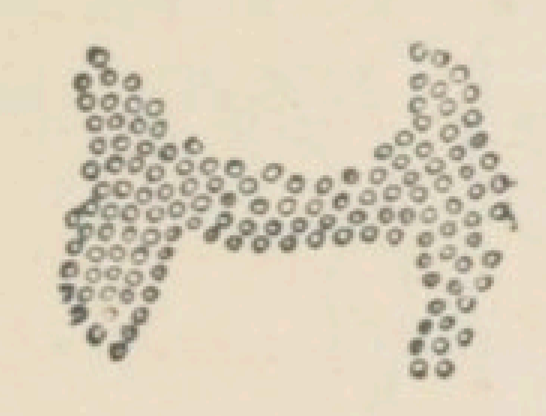


FIG. 48. — *Micrococcus pyogenes* (forme de *Staphylococcus*, d'après Rosenbach).

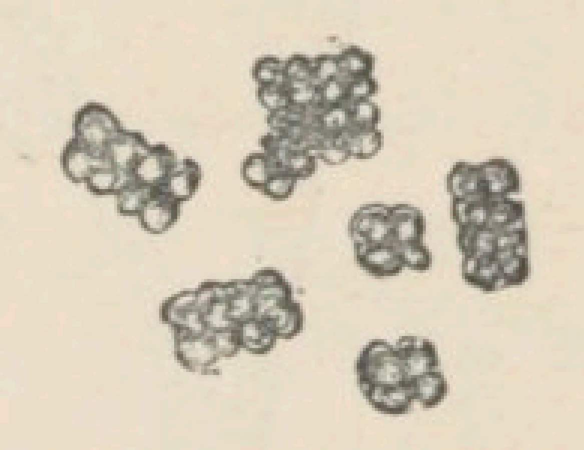


FIG. 49. — *Sarcina ventriculi*. 900/1.

[1] Experimental Investigations by the State Board of Health of Massachusetts upon the purification of sewage by filtration, etc. Part. II of *Report on water supply and sewerage*. Boston, Wright, and Potter Printing C°. State Printers, 18, Post-Office Square, 1890, 1 vol. de 910 pages. Voir particulièrement le rapport du biologiste.

[2] Macé, *Traité pratique de Bactériologie*, 2e éd., p. 255, Paris, 1891.

2° *Famille des Bactériacées.*

GENRES. — Bacillus (fig. 50) ;
Spirillum ;
Cladothrix (fig. 51) (groupe des Actinomyces) ;
Streptothrix.

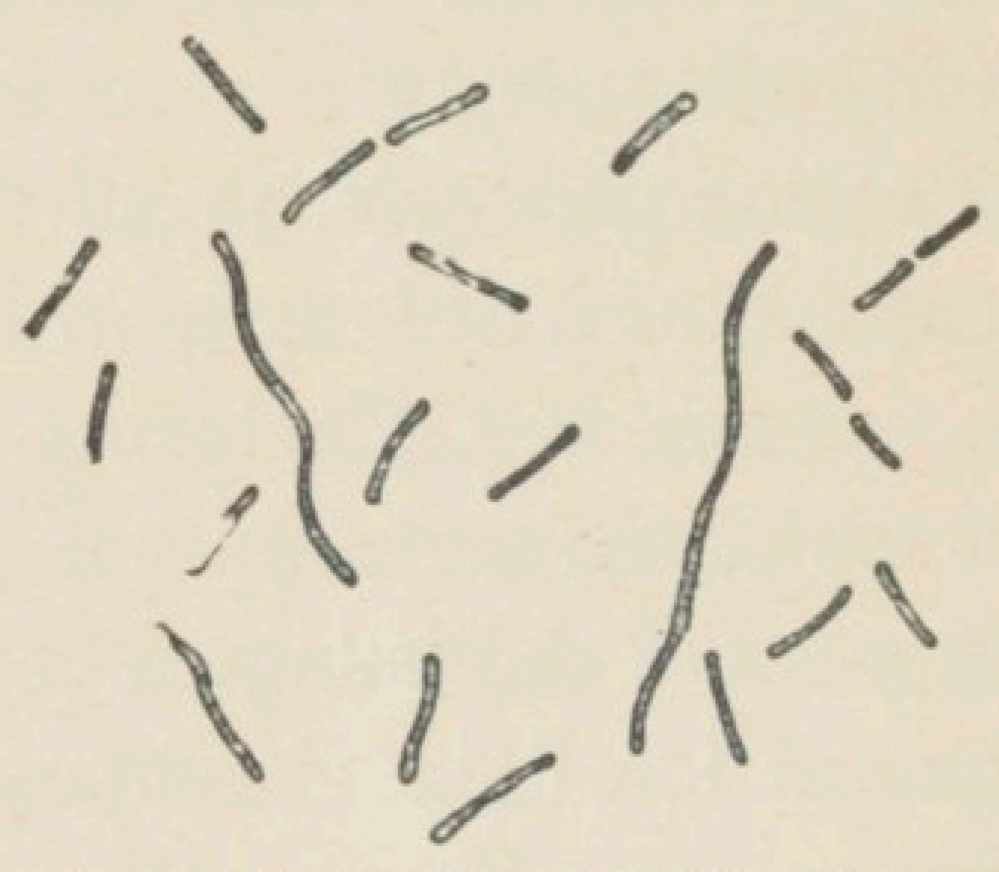


FIG 50. — *Bacille typhique* d'une culture sur pomme de terre. D'après Chantemesse et Widal.

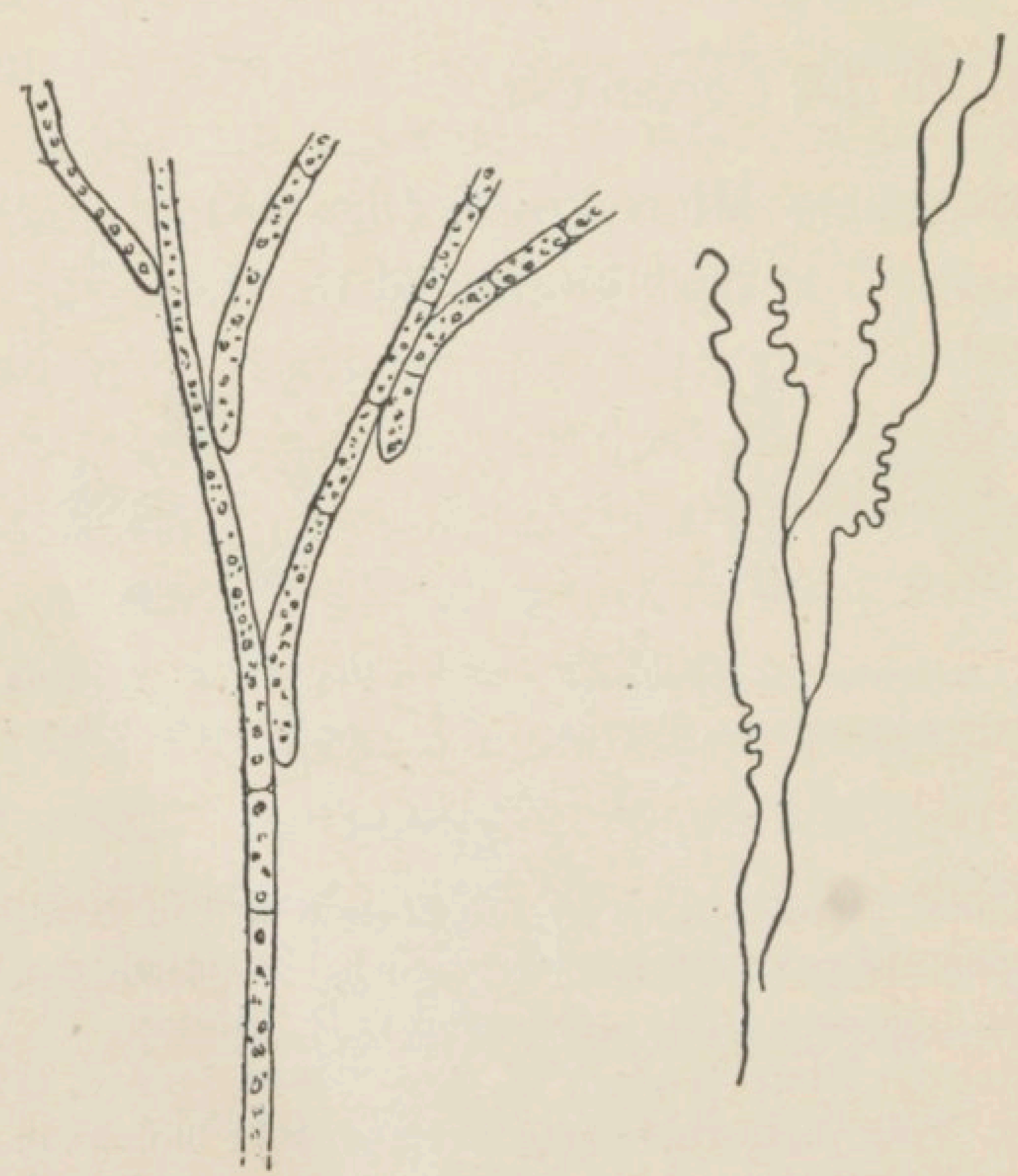


FIG. 51. — *Cladothrix dichotoma*, d'après Cohn.

3° *Famille des Beggiatoacées.*

GENRES. — Beggiatoa (fig. 52) ;
Crenothrix (fig. 53).

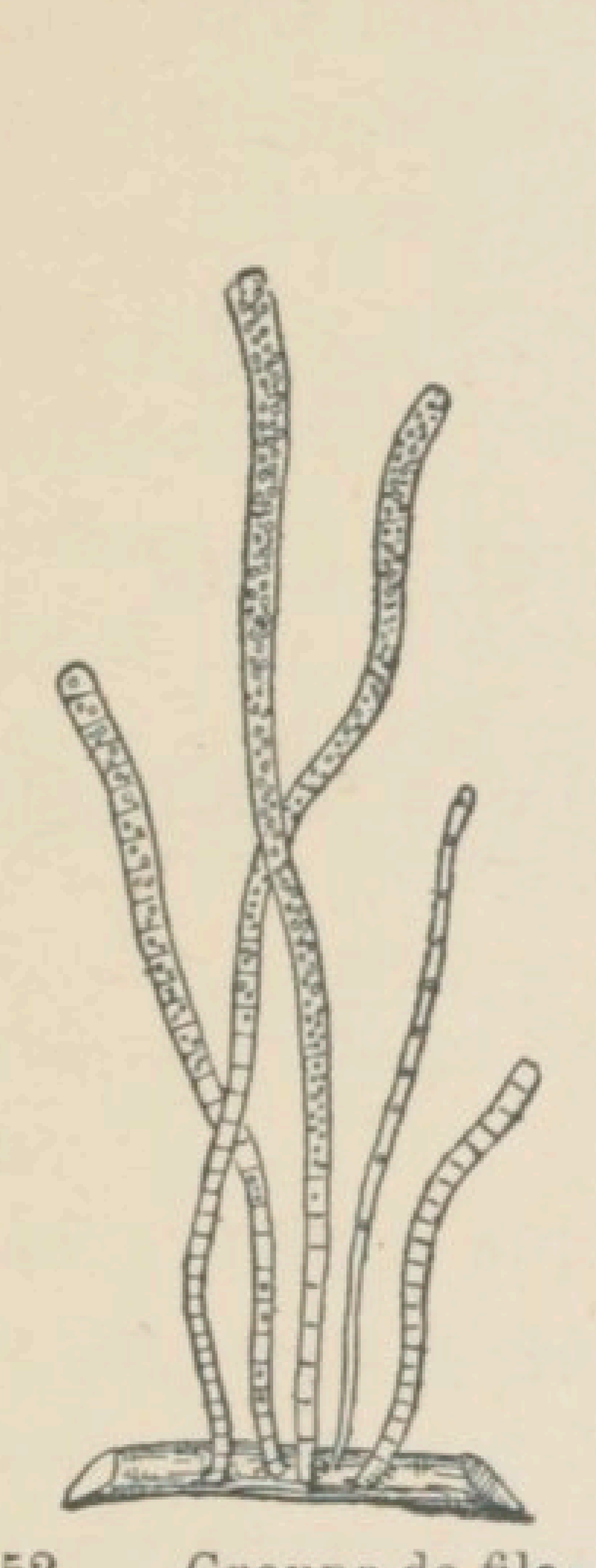


FIG. 52. — Groupe de filaments fixés de *Beggiatoa alba*, 540/1, d'après Zopf.

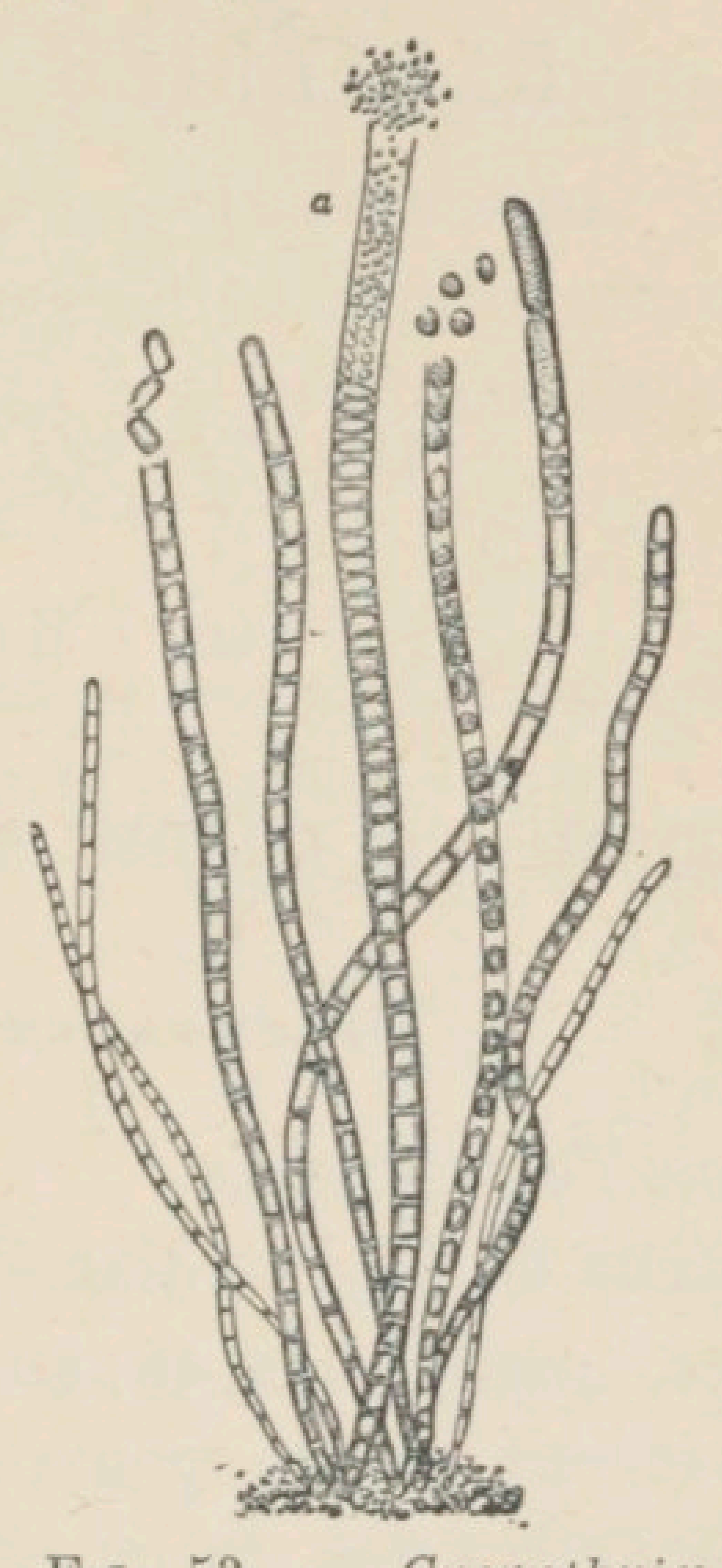


FIG 53. — *Crenothrix Kühniana*, 600/1, d'après Zopf.

Afin d'établir un certain ordre dans la description des espèces de chaque genre, je ferai intervenir la liquéfaction ou la non-liquéfaction de la gélatine, puis la production ou la non-production d'une matière colorante. Il est bien entendu que toutes ces espèces sont aérobies et non pathogènes pour l'homme ou les animaux, tout au moins considérées comme telles.

Quant aux espèces pathogènes bien connues, comme, en somme, elles se rencontrent dans l'eau en très petit nombre, et qu'il peut être utile de les bien mettre en évidence, je ne les ferai pas rentrer dans le cadre de la classification générale et je les décrirai ensemble et à part,

BACTÉRIES NON PATHOGÈNES

1re Famille : COCCACÉES

I. Genre : MICROCOCCUS Cohn

LIQUÉFIANT LA GÉLATINE, PRODUISANT UNE MATIÈRE COLORANTE

Micrococcus agilis Ali Cohen

Dans l'eau potable.

Coccus de 1 μ de diamètre, presque toujours en diplocoques, quelquefois en streptocoques, parfois en tétrades. Mouvement propre spontané très vif, possède des flagelles(?) extrêmement fins, longs, dépassant en longueur de quatre à cinq fois le diamètre (Löffler).

Facile à cultiver à la température de la chambre, ne se développe pas à la température du corps.

Se développe lentement.

Liquéfie excessivement lentement.

Micrococcus cremoides Zimmermann

Dans l'eau des conduites de Chemnitz et de Döbeln.

Coccus en grappes, d'environ 0,8 μ de diamètre.

Immobile.

Sur plaques. — La culture enfermée dans la gélatine se montre sous forme de petits points blanc jaunâtre, et à un faible grossissement, sous forme de disques nettement séparés de la gélatine; la couleur varie du jaunâtre au gris brunâtre,

l'aspect est granuleux, la forme circulaire. En arrivant à la surface, le contour perd sa régularité (il est comme rongé et dentelé) et la gélatine se liquéfie en forme de coupe. Alors la masse bactérienne recouvre le fond de la dépression sous forme d'une masse blanc jaunâtre, qui se dispose aussitôt en anneaux concentriques. Sous un faible grossissement : pelotons granuleux, brun jaune, entourés d'un anneau de granules moins serrés lequel est à son tour enfermé dans un anneau liquide transparent, dans lequel sont dispersés çà et là des granules.

A la périphérie on aperçoit souvent des appendices délicats, rayonnés, se prolongeant dans la gélatine.

Conditions de température : à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Liquéfiant.

Micrococcus flavus liquefaciens Flugge

Eau et air, assez commun dans l'eau, bien décrit par Flügge.

Coccus assez gros, fréquemment réunis en diplocoques et amas.

Immobile.

Sur plaques. — Petites colonies jaunâtres. Sous un faible grossissement, circulaires ou ovales avec contour net, mais finement dentelé, surface finement granuleuse, de couleur brun jaune. Du centre partent des rayons qui traversent la zone claire liquéfiée et aboutissent à l'anneau marginal dont le contour extérieur est nettement marqué. La colonie atteint plus tard un diamètre de 4 à 6 millimètres et ressemble à une roue de voiture.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe rapidement.

Liquéfie.

Micrococcus flavus desidens FLUGGE

Eau et air, trouvé dans l'eau par Adametz.

Petits coccus, généralement disposés en diplocoques, mais aussi en forme triangulaire ou en courtes chaînes.

Immobile.

Sur plaques. — Les colonies profondes se présentent sous forme de petits points de teinte variant du blanc au jaunâtre. Sous un faible grossissement, disques ovales, échancrés, brun jaune, finement granuleux. Les colonies superficielles atteignent, le quatrième jour, une dimension de 5 à 10 millimètres, sont rondes avec diverses échancrures et sont situées exactement au même niveau que la gélatine. La couleur devient jaune brunâtre, la gélatine située en dessous est ramollie, de consistance pulpeuse. Deux jours plus tard la colonie s'enfonce et il se forme un anneau d'enfoncement peu profond de 1 à 4 millimètres de large.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe lentement.

Liquéfie peu à peu.

Micrococcus fuscus MASCHEK

Cocco bruno de Lustig.

Eau (Maschek).

Coccus de forme souvent elliptique, parfois aussi courts bâtonnets.

Immobile.

Sur plaques. — Colonies rondes. Sous un faible grossissement, disques variant du brun clair au noirâtre, avec intérieur finement crevassé; la liquéfaction se produit de très bonne heure et, en même temps qu'elle, apparaît une substance colorante brune obscure.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe très rapidement.

Liquéfie.

Diplococcus luteus Adametz

Eau.

Coccus de 1,2 μ à 1,3 μ de diamètre, généralement en diplocoques, formant parfois des amas et des chaînes ayant jusqu'à dix articles avec mouvement vermiculaire.

Mouvement vif.

Sur plaques. — Au bout de trois jours, colonies rondes, jaune clair, muqueuses, épaisses, de 1 millimètre de diamètre. Sous un faible grossissement, grenues, jaune brun au centre, se transformant en jaune clair vers le bord lisse. Au bout de six jours, le diamètre des colonies, qui se colorent en jaune intense à partir du centre, est déjà de 3 millimètres.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe assez rapidement.

Liquéfie lentement.

Produit au bout de cinq jours la coagulation de la caséine du lait; ne produit pas de fermentation dans les liquides sucrés.

Micrococcus prodigiosus Ehrenberg

Trouvé dans l'eau par Adametz.

Forme très variée suivant les conditions dans lesquelles se fait le développement, tantôt ovoïde et tantôt en petits bâtonnets courts à extrémités arrondies; souvent en filaments; constitue sur les substrata nutritifs solides des zooglées, tandis que dans les liquides il existe des formes d'involution.

Mouvements spontanés seulement dans quelques milieux liquides.

Sur plaques. — Les colonies superficielles, au bout de deux jours, sont discoïdes, d'un gris clair, un peu enfoncées et entourées d'un cercle de 2 millimètres. A un faible gros-

sissement on constate que les contours sont irréguliers, le centre plus clair que la périphérie, et que la surface est granuleuse.

Liquéfaction rapide.

Produit sur la pomme de terre une belle teinte rouge sang. Le pigment est soluble dans l'eau, l'alcool et l'éther. Se développe à la température de 30°-35° C.

LIQUÉFIANT LA GÉLATINE, NE PRODUISANT PAS UNE MATIÈRE COLORANTE

Micrococcus aërogenes MILLER

Trouvé par Tils dans les conduites de Fribourg; habite ordinairement le tube digestif.

Gros cocci ovales immobiles.

Sur plaques. — Colonies généralement rondes, échancrées sur les bords, à contour lisse, de couleur blanc gris, marbrées de taches apparaissant au microscope tantôt claires et tantôt foncées.

Liquéfaction tardive et faible.

Micrococcus radiatus FLUGGE

Air et eau, trouvé dans l'eau par Adametz.

Petits cocci de 0,8 à 1 μ de diamètre, quelques-uns en courtes chaînes ou amas.

Léger mouvement propre.

Sur plaques. — Au bout de deux jours, colonies de 1 millimètre, blanches, liquéfiant faiblement, avec reflet vert jaune. Sous un faible grossissement, brun jaune, contour faiblement indiqué, rondes, grenues avec appendices en forme d'astéries. Deux jours plus tard ces derniers forment une couronne délicate, régulière de rayons. Parfois il

s'en forme encore une deuxième, éventuellement aussi une troisième à partir du bord de la première.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe rapidement.

Liquéfie lentement.

Pediococcus albus LINDNER

Dans l'eau de fontaine.

Sous forme de coccus, diplococcus et tétrades ; pas en forme typique de sarcine, fréquemment en forme de pseudo-sarcine, les tétrades voisines venant à se superposer.

Sur plaques. — Liquéfaction extrêmement rapide; les colonies globulaires tombent au fond, puis se développent en flocons irréguliers.

Le développement se fait le mieux de 20° à 25° C., a lieu aussi à 40° C., et la vitalité persiste après l'action pendant douze minutes d'une température de 50 à 55° C. ; une température de 60° C. le tue en huit minutes.

Se développe assez rapidement.

Liquéfie rapidement.

Streptococcus albus MASCHEK

Cocci n'étant mobiles que lorsqu'ils sont séparés les uns des autres.

Sur plaques. — Colonies plates entourées d'un rebord blanc se liquéfiant avec une très grande rapidité. A un faible grossissement, on observe dans le centre de la colonie un petit nuage jaune obscur.

Liquéfaction rapide (fig. 54).

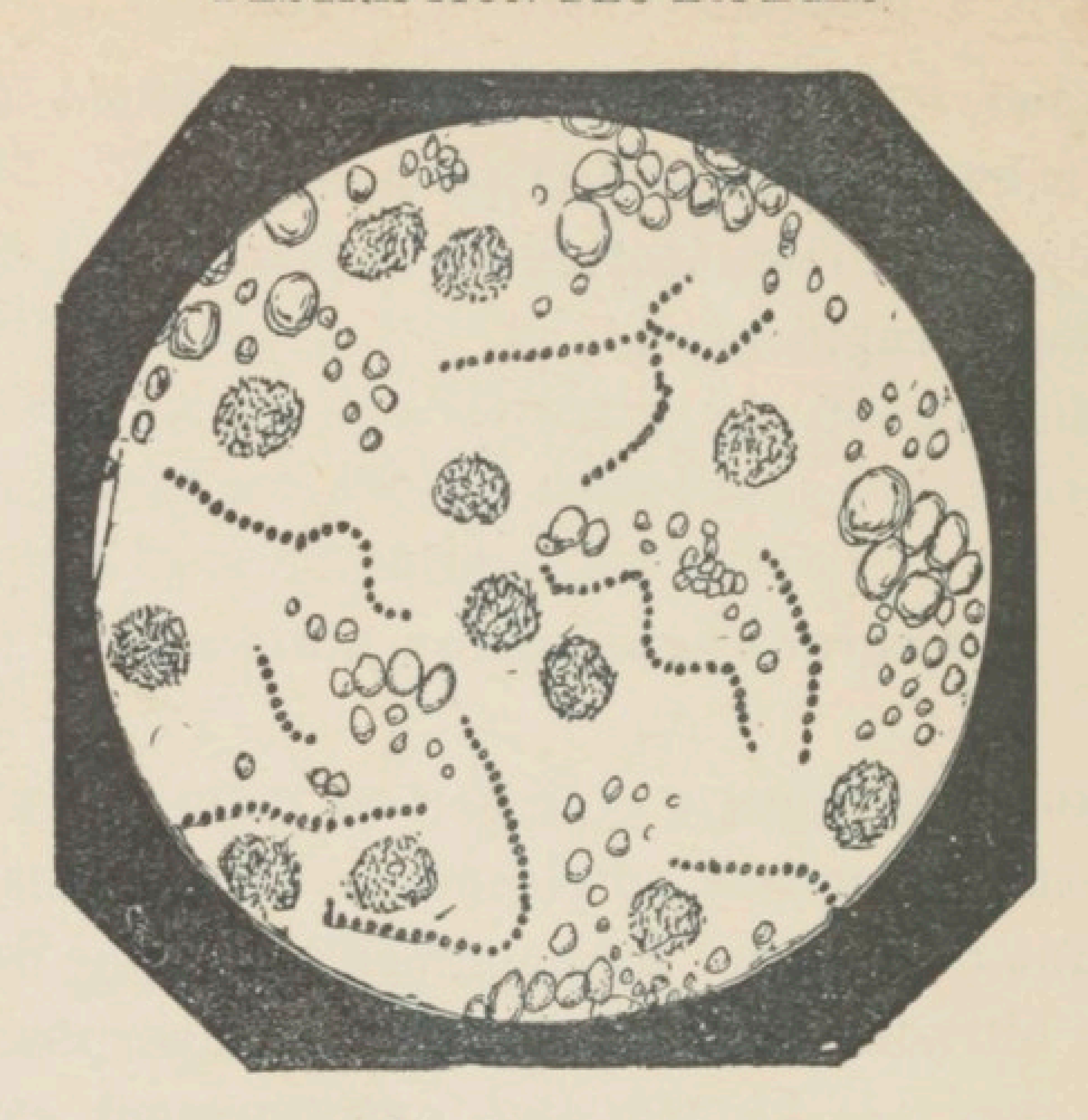


Fig. 54. — Lait de vache affectée de mammite contagieuse.
Exemple de streptocoque.

Streptococcus vermiformis Maschek

Le plus souvent les individus sont disposés de façon à simuler de véritables filaments qui se meuvent lentement avec un mouvement vermiforme.

Sur plaques. — Colonies blanc jaune qui s'abîment dans la gélatine ; la partie centrale est claire, tandis que la périphérie est formée d'un anneau obscur.

Liquéfaction rapide.

Coccus A Foutin

Cocci ronds.

Sur plaques. — Au bout de quatre jours, disques proéminents dont, à un faible grossissement, le centre est obscur et la périphérie plus claire, légèrement granuleuse.

Liquéfaction légère de la gélatine.

La culture sur pomme de terre est identique à celle du bacille d'Eberth.

Se développe à la température de la chambre.

Décrit par Foutin *(Centralbl. f. Bakteriol.*, 1890, n° 12) et trouvé dans la grêle.

NE LIQUÉFIANT PAS LA GÉLATINE, PRODUISANT UNE MATIÈRE COLORANTE

Micrococcus aurantiacus Cohn

Eau.

Coccus ronds ou faiblement ovales, de 1,3 à 1,5 μ de diamètre, isolés ou réunis en diplocoques ou en amas.

Immobile.

Sur plaques. — Colonies rondes ou elliptiques, jaune orange, avec surface à éclat lisse ; sous un faible grossissement, finement ponctuées.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe lentement.

Ne liquéfie pas.

Micrococcus cerasinus siccus (rouge-cerise) List

Micrococco rosso-ciliegia de Lustig.

Trouvé dans l'eau par Adametz.

Très petits cocci ayant 0,25 à 0,32 μ de diamètre, isolés ou disposés en diplocoques, en zooglées ou en torula.

Immobile.

Développement sur gélatine : revêtement superficiel de couleur rouge-cerise, d'apparence sèche et qui s'étend assez rapidement.

Se développe le mieux à 37°,5 centigrades.

Très rapide développement.

Rapport avec gélatine : Terrain nutritif peu favorable.

Ne liquéfie pas.

Micrococcus cinnabareus Flugge

Air et eau.

Gros microcoques globulaires, formant fréquemment des diplocoques et des tétrades.

Sur plaques. — Colonies profondes, punctiformes, à peine perceptibles au bout de quatre jours; sous un faible grossissement: forme ovale ou lenticulaire, avec contour net et teinte brun rouge foncé. Les colonies superficielles ont, au bout de quatre jours, un diamètre de 0,5 à 1 millimètre et sont rouge brique; au bout de huit jours elles dépassent la gélatine en forme de bouton et deviennent rouge cinabre.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe très lentement.

Ne liquéfie pas.

Micrococcus citreus (couleur crème) List

Eau.

Très gros coccus, de 1,5 à 2,2 μ de diamètre, complètement ronds, isolés ou en diplocoques ou encore en chaînes formées pas un nombre de coccus allant jusqu'à 8 et davantage.

Immobile.

Sur plaques. — Colonies couleur crème, jaune clair sale, qui au bout de quelques jours dépassent de 5 millimètres la surface de la gélatine et ont jusqu'à 5 et 8 millimètres de diamètre, généralement irrégulièrement limitées, à éclat humide.

Se développe le mieux à 37°,5 centigrades.

Développement rapide.

Ne liquéfie pas.

Micrococcus cyaneus Schröter

Cellules elliptiques, immobiles, formant des zooglées.

Sur plaques. — Colonies petites, rondes et bien délimitées;

à un faible grossissement, on observe un centre bleuâtre entouré d'une sorte de réseau irrégulier.

Ne liquéfie pas.

Le pigment a la couleur de la teinture de tournesol, les acides le rendent rouge et il revient au bleu par l'ammoniaque; il est soluble dans l'eau.

Micrococcus fulvus Cohn

Cocci ronds de 1,2 à 1,5 μ de diamètre, souvent unis en diplocoques.

Immobiles.

Sur plaques. — Grumeaux muqueux, de couleur rouge de rouille de 1/2 à 1 millimètre de diamètre.

Son habitat ordinaire est l'excrément de cheval.

Micrococcus flavus tardigradus Flugge

Air et eau.

Gros coccus globulaires, généralement disposés en amas, parfois avec pôles particulièrement foncés.

Immobile.

Sur plaques. — Les colonies profondes ont, au bout de six jours, jusqu'à 4 à 6 millimètres de diamètre, sont rondes ou ovales, jaune chrome foncé; sous un faible grossissement : contour lisse, teinte vert olive foncé uniforme. Les colonies superficielles ont jusqu'à 1/2 à 1 millimètre de diamètre, une surface lisse, laquée et leur centre dépasse un peu la surface de la gélatine. Sous un faible grossissement, bord clair, plutôt jaune gris.

Se développe à la température de la chambre.

Développement extrêmement lent.

Ne liquéfie pas.

Micrococcus luteus Cohn

Eau.

Cocci elliptiques de 1 à 1,2 μ de diamètre. Formation

de zooglées, avec un peu de substance intercellulaire épaisse, légèrement soluble dans l'eau.

Immobile.

Sur plaques. — Colonies de 1 à 2 millimètres, à éclat humide, jaune de soufre, atteignant jusqu'à 4 millimètres de diamètre et 5 millimètres de hauteur, irrégulièrement limitées. Sous un faible grossissement, légèrement grenues.

Se développe à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Non liquéfiant.

Cocco stellato Maschek

Ne forme pas de chaînettes.

Immobile.

Sur plaques. — Les colonies ont la forme d'une étoile régulière ; de l'intérieur des colonies arrivées à leur parfait développement, qui ont alors ordinairement 2 millimètres de diamètre et qui sont brunes, partent de 5 à 15 prolongements qui se terminent en se ramifiant.

Ne liquéfie pas.

Coccus ruber

Plusieurs individus groupés ensemble forment des amas qui simulent des sarcines.

Immobile.

Sur plaques. — Colonies rondes, rouge clair, avec le centre plus obscur et les bords granuleux.

Se développe à la température ambiante et à 37° centigrades.

Trouvé dans l'eau par Maschek.

Ressemble au *M. cinnabareus* dont il ne diffère que parce que sa culture n'a pas la forme d'un clou.

Paraît identique au *M. carneus* de Zimmermann.

Micrococcus versicolor Flugge

Air (très fréquemment) et eau.

Petits cocci réunis par deux ou en amas.

Sur plaques. — Au bout de vingt-quatre heures, points blancs ; au bout de deux jours, dans la profondenr, colonies jaunes, globulaires, atteignant jusqu'à 1 millimètre de diamètre ; sous un faible grossissement, colonies circulaires, à contour net, de couleur brun jaune, opaques, finement grenues. Les colonies superficielles forment des dépôts plats de 2 à 6 millimètres, même de 10 millimètres au bout de quatre à cinq jours, de forme irrégulière, souvent quadrangulaire, avec excavations et saillies. Le dépôt est muqueux, à surface brillante, vert jaune, avec reflet nacré verdâtre ou bleuâtre suivant l'éclairage.

Se développe à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Non liquéfiant.

Micrococcus violaceus Cohn

Eau.

Cocci elliptiques, fréquemment en chaînes.

Immobile.

Sur plaques. — Colonies violettes, formant une saillie hémisphérique.

Se développe à la température de la chambre.

Développement lent.

Non liquéfiant.

NE LIQUÉFIANT PAS LA GÉLATINE, NE PRODUISANT PAS UNE TIÈRE COLORANTE

Micrococcus aquatilis Bolton

D'une fréquence extrême dans l'eau, surtout quand elle est restée quelque temps stagnante.

Très petits coccus, se groupant en amas irréguliers.

Sur plaques. — Colonies rondes, blanc de porcelaine, faiblement bombées. Sous un faible grossissement les colonies profondes sont arrondies, avec contour rugueux, rongé, ont la forme de mûres, une teinte jaunâtre clair. Les cultures superficielles sont circulaires, avec une étroite zone marginale homogène et un centre présentant un dessin spécial, rappelant le dessin schématique de la coupe d'un acinus du foie.

Se développe à la température ordinaire.

Développement lent.

Non liquéfiant.

Micrococcus candicans Flugge

Eau et air, souillure des plaques extrêmement fréquente.

Cocci assez gros, régulièrement arrondis, disposés en amas irréguliers.

Immobile.

Sur plaques. — Les colonies forment dans la profondeur, au bout de deux jours, des disques blancs tirant sur le jaunâtre, de 0,4 à 0,5 μ de diamètre ; à la surface elles sont d'un blanc laiteux pur, lisses, ressemblant à des gouttes de laque. Sous un faible grossissement elles montrent des contours irréguliers et une fine granulation ; au centre elles sont d'un brun foncé, plus clair vers le bord ; celles du fond sont circulaires, à bord lisse, d'un brun noir foncé, avec indication d'une granulation superficielle.

Se développe à la température de la chambre.

Développement rapide.

Non liquéfiant.

Micrococcus candidus Cohn

Cocci petits, ronds, réfringents, de 0,5μ à 0,7μ de diamètre; forment des zooglées.

Immobiles.

Sur plaques. — Colonies en forme de grumeaux déprimés, arrondis, puis irréguliers, de couleur blanche, à surface convexe. A un faible grossissement, les colonies apparaissent faiblement granuleuses.

Ne liquéfie pas.

Ne produit pas de fermentation dans les liquides sucrés (Adametz).

Micrococcus concentricus Zimmermann

Eau des conduites de Chemnitz.

Cocci disposés en amas irréguliers, de 0,9μ de diamètre.

Immobile.

Sur plaques. — La culture enfermée dans la gélatine se montre sous la forme d'un petit point gris bleu. A la surface, elle s'étend et forme d'abord un petit disque rond, gris bleu, qui s'élargit bientôt irrégulièrement. Au bout de cinq jours environ elle a à peu près 3 millimètres de large et montre au milieu un disque blanc gris, qui est entouré d'un anneau gris blanc, irrégulièrement dentelé sur les bords. Sous un faible grossissement la colonie profonde se montre sous la forme de disque circulaire, granuleux, de teinte variant du brunâtre clair au vert jaunâtre, qui montre presque régulièrement à l'intérieur plusieurs cercles concentriques. La colonie superficielle montre à l'intérieur un disque brun gris, foncé, irrégulièrement dentelé au bord et portant çà et là de fines fissures radiales; ce disque est entouré d'un anneau brunâtre clair, granuleux, rayé, irrégulièrement échancré, bordé d'un rebord blanchâtre, brillant.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Non liquéfiant.

Micrococcus fervidosus ADAMETZ-WICHMANN

Eau.

Petits cocci ronds, de 0,6μ de diamètre, disposés partie en diplocoques, partie en petits amas.

Immobile.

Sur plaques. — Dans la profondeur, au bout de quatre à cinq jours, petits points blancs. Sous un faible grossissement : teinte jaunâtre faible, fortement réfringents, à contour lisse, analogues à des gouttes de rosée. A la surface, au bout de cinq à six jours, colonies jaunes, transparentes, à bord dentelé, montrant de nombreuses excavations et saillies anguleuses. Les vieilles cultures sont granuleuses au centre, de teinte brunâtre. La masse fongueuse entourant le centre montre un faible plissement.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe très lentement.

Non liquéfiant.

Micrococcus plumosus BRAUTIGAM

Eau.

Cocci ronds de 0,8μ de diamètre, formant des zooglées.

Immobiles.

Sur plaques. — Colonies linguiformes, blanc jaunâtre, rampant sur le substratum, à bords généralement relevés en forme de rempart.

Se développe à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Non liquéfiant.

Micrococcus rosettaceus ZIMMERMANN

Dans l'eau des conduites de Chemnitz et de Dobeln.

Cocci irréguliers, globulaires ou ellipsoïdaux, de grosseur

variable, disposés en grappe. Le diamètre varie de 0,7μ jusqu'au delà de 1,0μ.

Immobile.

Sur plaques. — La culture enfermée dans la gélatine se montre sous la forme d'un petit corpuscule blanc gris ; la culture superficielle sous la forme d'une goutte gris jaunâtre, un peu aplatie, brillante, à bord plus ou moins irrégulier. Sous un faible grossissement, la première forme un disque complètement circulaire, nettement séparé de la gélatine ; dans des cas très rares elle montre une forme lenticulaire ou conchoïde. La seconde a des contours irréguliers, est d'une couleur brunâtre, plus intense au centre, allant en s'éclaircissant peu à peu vers les bords.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Non liquéfiant.

Micrococcus ureæ (Pasteur) Van Tieghem

Cocci de 0,8μ à 1μ de diamètre. Souvent réunis en diplocoques ou en tétrades ou en chaînettes.

Sur plaques. — Colonies petites, d'un blanc nacré, à surface lisse et à bords aigus ; les colonies un peu anciennes ressemblent à une goutte de bougie. Au bout de dix jours elles atteignent les dimensions d'une pièce de deux centimes ; les vieilles cultures ont une odeur de colle.

Ne liquéfie pas.

Bien étudiée par Pasteur, van Tieghem, Leube.

Se rencontre surtout dans l'air, mais peut être mise en évidence dans certaines eaux souillées par les déjections.

Un des agents microbiens de la fermentation ammoniacale de l'urine.

Très rare dans certaines atmosphères et notamment à Lyon ou la transformation de l'urée en carbonate d'ammoniaque est due à d'autres bactéries.

Micrococcus viticulosus Katz

Air et eau.

Cocci ovales, de 1 à 1,2μ de diamètre, formant des masses denses de zooglées.

Sur plaques. — Les colonies profondes forment de fines branches chevelues, partant d'un centre, qui forment un réseau extrêmement délicat s'étendant largement. Sous un faible grossissement ces branches sont constituées par des zooglées de diverses grosseurs, disposées en chapelet et montrent un contour échancré. Les colonies superficielles forment un dépôt mince, gélatineux, opaque, blanchâtre, s'étendant rapidement, d'où partent des fils fins pénétrant dans les couches profondes de gélatine.

Se développe rapidement à la température de la chambre.

Non liquéfiant.

II. Genre SARCINA

Sarcina lutea Schröter

Décrite par Flügge, Adametz, Maschek, Zimmermann.

Grands cocci ayant plus d'un μ, immobiles, disposés en petits paquets.

Sur plaques. — Colonies petites, jaunes, se développant lentement, qui, à un faible grossissement, apparaissent gris brun, irrégulières, à bords transparents.

Liquéfaction lente et graduelle.

Se développe à 22° et aussi à 30° centigrades.

Sarcina aurantiaca Koch

Trouvée par Koch (*Mittheil. aus d. Kais. Gesundheit Amt.*, Bd. II).

Cocci petits, semilunaires, immobiles, avec la disposition caractéristique des sarcines.

Sur plaques. — Colonies jaune orange apparaissant à un faible grossissement rondes, avec des bords aigus et la surface granuleuse.

Liquéfaction lente.

Développement très lent.

Sarcina alba

Air et eau.

Petits cocci réunis par deux ou quatre.

Sur plaques. — Se développe lentement en petites colonies rondes, blanches.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe très lentement.

Liquéfie très lentement et légèrement.

Sarcina candida Reinke

Dans le réservoir d'eau d'une brasserie et dans l'air des localités à brasseries.

Cocci ou diplococci, tétrades ; les cellules ont un diamètre de 1,5 μ à 1,7 μ, se développent suivant trois dimensions seulement dans des conditions de culture parfaitement déterminées (Hendekokt).

Sur plaques. — Colonies brillantes, blanches, plus tard jaunâtres, avec aréole de gélatine liquéfiée.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe lentement.

Liquéfie rapidement.

2e Famille : BACTÉRIACÉES

I. Genre BACILLUS

LIQUÉFIANT LA GÉLATINE, PRODUISANT UNE MATIÈRE COLORANTE

Bacillus aerophilus Liborius

Bacilles fins, entourés d'une gaine délicate, se réunissent en filaments droits ou courbés.

Sur plaques. — Au bout de deux jours, colonies punctiformes, ovales au début, avec des contours aigus, de couleur jaune vert: la liquéfaction commence alors brusquement et envahit bientôt toute la plaque.

Bacillus arborescens G. et P. Franckland

Très fréquent dans l'eau des conduites de Londres *(Zeitsch. f. Hyg.* II Bd., 1889).

Bâtonnets grêles à extrémités arrondies de 2,5 μ de long sur 0,5 μ de large, souvent réunis en chaînettes de deux, trois, quatre éléments (sur gélatine) ou en longs filaments ondulés (bouillon).

Mouvement d'oscillation sans progression propre.

Sur plaques. — Au bout de vingt-quatre heures, à un faible grossissement, on observe les colonies formées par un tronc mince, ovale, portant à ses deux extrémités des appendices en forme de racines; plus tard, l'aspect devient celui d'une gerbe de blé qui, au microscope, montre un faisceau irisé, étranglé dans son milieu avec des stries radiaires aux extrémités. Les colonies sont jaunes et le pourtour en est irisé.

Développement très lent à la température de la chambre.

Liquéfaction tardive et lente.

Trouble le bouillon en formant un sédiment.

N'est pas nitrifiant.

Suivant San Félice, le *B. arborescens*, le *Proteus Zenkeri* (Hauser), le *B. aquatilis* sont des variétés appartenant au *Proteus vulgaris* et liquéfiant lentement la gélatine (Lustig).

Bacillus cloacæ Nov. spec.[1]

Une des bactéries les plus communes des eaux d'égout de Lawrence.

Bacilles courts, gros, ovales, à extrémités bien arrondies, d'environ 0,8 à 1 μ de long sur 0,7 à 1 μ de large, ressemblant à des microcoques, souvent par couples, un peu plus longs et gros sur pomme de terre.

Très mobiles.

Sur plaques. — En vingt-quatre ou quarante-huit heures, colonies rondes, jaunâtres, formant à la surface de la gélatine une légère expansion bleuâtre avec bords irrégulièrement dentelés, commençant immédiatement à liquéfier la gélatine. A un faible grossissement, centre foncé entouré d'une zone translucide et d'un bord foncé à intérieur finement granuleux.

Liquéfie rapidement toute la plaque.

Température optimum, 37°.

Dans le bouillon. — Trouble considérable en quarante-huit heures ; au bout de dix à quatorze jours fort précipité blanchâtre ; légère pellicule peu consistante à la surface.

Coagule le lait avec forte réaction acide en quatre jours.

Réduit vigoureusement les nitrates.

[1] La plupart des nouvelles espèces décrites sont empruntées au rapport de M. E. Jordan dans : *Experim. investigat. by the State Board, etc.*, que j'ai déjà signalé à la note de la page 58.

Bacillus C Foutin

Décrit par Lustig.

Bacilles minces; longs de 1 à 2 μ, semblables au *B. murisepticus*.

Mouvements propres.

Sur plaques. — Colonies blanches, punctiformes; au début elles sont jaune clair, transparentes, avec la périphérie dentelée.

Lente liquéfaction infundibuliforme de la gélatine; liquide rouge brun.

Se trouve dans l'eau et aussi dans la grêle *(Central. f. Bakter.*, 1890, n° 12).

Bacillus cæruleus Smith

Trouvé dans l'eau de Schnylkill par Smith *(Medic. News.*, 1897, vol. II, et *Centralb. f. Bakteriol.*, 1888, p. 801).

Bâtonnets de 2 à 25 μ de long, et 5 μ de large, souvent en chainettes.

Sur plaques. — Colonies rondes, de couleur bleuâtre, liquéfiant superficiellement.

Développement assez lent à la température de la chambre.

Bacille couleur de chair Tils

Trouvé fréquemment par Tils, en octobre, dans la conduite de Herdern.

Bâtonnets grêles de 2 μ de long sur 0,5 μ de large.

Généralement isolés, rarement réunis.

Mobilité très vive.

Sur plaques. — Au bout de deux jours, colonies rondes, blanches, liquéfiant rapidement la gélatine en forme de coupe. A un faible grossissement, contour net; autour du centre foncé, plusieurs zones annulaires alternativement claires et

foncées, la zone marginale extrême incolore et grossièrement granuleuse.

Liquéfaction très rapide.

Les colonies ont une couleur de chair foncée sur pomme de terre, d'où le nom donné par Tils.

Bacillus cuticularis TILS

Trouvé fréquemment par Tils dans l'eau de Mösle.

Bacilles grêles de 2 à 3 μ de long sur 0,3 à 0,5 μ de large, disposés dans les cultures en filaments eux-mêmes réunis en membrane.

Mobilité très restreinte.

Sur plaques. — Colonies profondes sous forme de disques brunâtres, irréguliers, à bord lisse; colonies superficielles à bord net, à contours échancrés, d'un brun jaune au centre, incolores à la périphérie, s'élevant tout d'abord au-dessus de la gélatine, puis, au bout de quelques jours, s'enfonçant dans celle-ci en la liquéfiant rapidement, la colonie alors flotte sous forme d'une pellicule blanc gris.

Liquéfaction rapide.

Bacillus fluorescens liquefaciens (jaune-vert) FLUGGE

B. verde-giallo de Lustig.

Fréquent dans l'eau.

Petits bâtonnets grêles très mobiles, généralement réunis par deux.

Sur plaques. — Colonies rondes, déprimées, brunes au centre, finement ponctuées, à bord festonné, à contour net; belle fluorescence, diffuse, jaune verdâtre, de la gélatine environnante sur une étendue de 4 à 5 millimètres, peut cependant manquer.

Développement rapide à basse température. Ne croît pas aux températures élevées.

Liquéfiant très rapidement.

Bacillus fluorescens nivalis SCHMOLCK

Bactérie des glaces.

Trouvé dans l'eau de fusion et la neige des glaciers norvégiens.

Bâtonnets courts souvent en chaînes, mobiles.

Sur plaques. — Petits points blanchâtres qui s'étendent rapidement et deviennent des colonies rondes, liquéfiantes, fluorescence gris bleu de la gélatine environnante.

Développement très rapide à la température de la chambre.

Liquéfie rapidement.

Bacillus fulvus ZIMMERMANN

Dans l'eau des conduites de Chemnitz et de Dobeln.

Courts bâtonnets, arrondis aux deux extrémités, formés d'un, deux ou plusieurs articles. La grosseur des bâtonnets est d'environ 0,77 μ, la longueur 0,86-1,3 μ.

Immobile.

Sur plaques. — Les colonies profondes sont irrégulièrement arrondies ou allongées, ou ovoïdes, d'un gris jaunâtre, granuleuses. Elles sont généralement entourées de taches d'un jaune pâle. Les colonies superficielles jaune rouge ont, au bout de huit jours, un diamètre de 1 millimètre ou un peu plus, elles sont arrondies et nettement bombées en forme de goutte.

Se développe le plus rapidement vers 30° centigrades et assez lentement à la température de la chambre.

Liquéfie.

Bacillus glaucus MASHEK

Trouvé dans l'eau,

Bâtonnets fins, grêles, de longueur variable,

Immobile.

Sur plaques. — Colonies grises, rondes, à contours nets. Au quatrième jour, le centre est d'un gris intense et les bords sont bruns avec des plis radiés. Au huitième jour, liquéfaction en entonnoir.

Développement très rapide à la température de la chambre.

Bacillus helvolus Zimmermann

Dans l'eau des conduites de Chemnitz.

Courts bâtonnets qui, au début, sont généralement réunis, par deux, quatre ou davantage, et forment plus tard de longs fils réguliers. L'épaisseur des bâtonnets est d'environ 0,5 μ, la longueur de 1,5-2,5 μ, parfois même jusqu'à 4,5 μ.

Mobilité : montrent seulement un mouvement rotatoire autour du grand axe.

Sur plaques. — La colonie entourée de gélatine se montre sous la forme d'un petit corpuscule circulaire de teinte jaune clair. Arrivée à la surface, elle forme une goutte jaune pâle, fortement bombée, reposant dans une légère dépression. Sous un faible grossissement, disques à contour net, circulaires, granulés, de couleur jaunâtre pâle à brunâtre pâle. Les colonies superficielles montrent aussi pendant un certain temps des contours nets, mais qui deviennent irréguliers, et la colonie est d'un brun foncé par transparence.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement modéré.

Liquéfie.

Bacillus Janthinus Zopf

Dans l'eau du Panke et dans l'eau des conduites de Chemnitz, mais rarement.

Bâtonnets longs et courts, disposés en amas entremêlés ou côte à côte. La grosseur d'un bâtonnet est d'environ 0,65 μ,

la longueur varie de de 1,5 μ à 3,5 μ. Les longs bâtonnets sont généralement infléchis, les courts rectilignes.

Mouvement rotatoire et vibratoire.

Sur plaques. — A l'intérieur de la gélatine, les colonies apparaissent sous la forme de petits points blancs. En arrivant à la surface ils s'étalent et forment de petits disques bleu gris, presque circulaires, qui montrent au centre une légère proéminence nébuleuse; au bout de cinq jours, dépôts en forme de goutte, gris jaunâtre, brillants, de contour arrondi, irrégulier, et d'un diamètre de 2 millimètres et demi. Sous un faible grossissement, la colonie enfermée dans la gélatine est circulaire ou à peu près circulaire, à contour net, d'un brun jaune, diminuant d'intensité en allant du centre à la périphérie. Le développement ultérieur fait apparaître des anneaux concentriques délicats. La colonie arrivée à la surface se montre d'un beau jaune pâle et est si claire au bord qu'elle se distingue difficilement de la gélatine; le bord est très faiblement échancré et dentelé.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement assez lent. Sur la plaque, la culture n'atteint qu'au bout de huit jours un diamètre d'environ 3 millimètres.

Liquéfie.

Forme dans le bouillon un voile mycodermique de couleur violette.

Décrit par Flügge *(Die Microorgan.*, 1886, p. 291), par Plagge et Proskauer *(Zeitschs. f. Hyg.*, Bd. II, 3 Hft. 1889); il est identique à celui décrit par Hueppe et au bacille trouvé dans l'eau par Rozsahegyi, ainsi qu'à celui trouvé par O. Bujwid dans la grêle *(Centralbl. f. Bakteriol* , 1888), Maschek et Zimmermann l'ont trouvé dans l'eau.

Bacille jaune-citron Maschek

Trouvé par Tils dans l'eau des conduites de Fribourg.

Courts bâtonnets ayant un vif mouvement pendulaire.

Sur plaques. — Colonies circulaires blanc jaunâtre ; à un faible grossissement l'intérieur est brun clair et les contours sont finement ramifiés.

Liquéfie la gélatine.

Donne des colonies jaune citron sur gélatine piqûre, agar et pomme de terre.

Bacillus lividus Plagge et Proskauer

Trouvé dans l'eau des conduites de Berlin.

Bâtonnets fins, de grandeur moyenne.

Immobile.

Sur plaques. — Colonies ressemblant au début à une goutte d'encre, liquéfiant lentement en formant un entonnoir au fond duquel s'accumule un sédiment violet bleu.

Développement lent à la température ordinaire.

Aérobie facultatif.

Bacillus ochraceus Zimmermann

Trouvé dans les conduites de Chemnitz par Zimmermann, et décrit à nouveau par Fazio (*I microbi delle acque minerali*, 1888).

Bâtonnets arrondis aux deux extrémités, formés de deux ou plusieurs articles, avec un diamètre de 0,65-0,75 μ. La longueur est de 1,25-4,5 μ, mais il y a parfois aussi de plus longs filaments articulés. Souvent on aperçoit dans les préparations colorées des enveloppes capsulaires.

Mouvement lent d'ondulation.

Sur plaques. — Au début, petits corpuscules globulaires, jaune pâle, qui s'agrandissent peu à peu, liquéfiant la gélatine sous-jacente et viennent se placer dans une dépression en forme de coupe. La coloration devient alors plus intense et se transforme en jaune d'ocre doré plus ou moins intense. Plus tard la masse jaune s'étale et se montre au bord d'un

jaune plus pâle qu'au centre. Sous un faible grossissement : d'abord sous forme d'un disque brun jaune granulé, plus tard comme verruqueuse, elle fait l'impression d'un animal articulé à nombreuses pattes.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement pas très rapide.

Liquéfie.

Bacillus plicatus Zimmermann

Dans l'eau des conduites de Chemnitz.

Petits bâtonnets minces, arrondis aux extrémités, généralement disposés par deux, mais aussi par quatre et davantage. Le diamètre du bâtonnet est d'environ 0,45 μ. Sa longueur d'environ 0,48 μ.

Immobile.

Sur plaques. — Dès que la colonie devient visible à l'œil nu, sous forme d'un petit corpuscule blanc jaunâtre, encore enveloppé de gélatine, celui-ci montre déjà une forme irrégulière un peu allongée. A la loupe on reconnaît déjà des saillies ou dépressions en segment de sphère. Dès qu'elles ont percé la gélatine, les formations se multiplient et le tout ressemble à une mûre de couleur blanc jaunâtre. Sous un faible grossissement : d'un gris jaunâtre, irrégulièrement limité, recouvert à la surface de petites éminences distinctes.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement modéré.

Liquéfie.

Bacterium rosaceum metalloides Dowdesw l

Petits bâtonnets courts, longs de 0,92 μ à 1,45 μ, gros environ de 0,65 μ.

Immobile.

Sur plaques. — Les colonies incluses dans la gélatine

sont représentées par de petits points gris blanc; arrivées à la surface, elles prennent une coloration jaune rouge. Elles s'étendent à la surface et, au bout de six jours elles atteignent de 2 à 3 centimètres de diamètre; elles portent en leur centre un pigment rouge; la périphérie plus mince est bleuâtre. Plus tard, la couleur rouge s'étend sur toute la colonie.

Liquéfaction tardive au bout de deux à trois semaines.

La température ambiante est celle qui convient le mieux.

Le pigment ne se développe qu'en présence de l'oxygène.

A été décrit par Dowdeswel (*Ann. micrograph.*, Paris, 1889).

Semble identique au *Bacillus miniaceus* trouvé par Zimmermann dans l'acqueduc de Chemnitz.

Bacille rouge de Kiel

Trouvé dans les canaux de la ville de Kiel par M. J. Breunig (*Bacteriolog. Untersuch. Trinkwassers der Stadt Kiel*, thèse inaug., Kiel, 1888).

Cultures ressemblant beaucoup à celles du *M. prodigiosus*, mais c'est un véritable bacille restant tel sur tous les milieux, ayant 2,5μ à 8 et 10μ de long sur 0,7μ à 0,8μ de largeur.

Sur plaques. — Dans la profondeur, colonies ovales, à contour entier ou sinueux, blanches à l'œil nu, d'un jaune pâle au microscope. Colonies superficielles, colorées en rouge sang, s'étalant largement, à contour sinueux, entourées d'une zone claire, liquéfiant lentement la gélatine dès le cinquième jour. Les colonies profondes restent incolores.

Le pigment présente les mêmes propriétés et les mêmes réactions que celui du *M. prodigiosus*.

Une bonne étude sur la variabilité de ce bacille a été faite par E. Laurent dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, août 1890.

Bacillus rubidus.

Trouvé dans l'eau exclusivement.

Bâtonnets de grandeur moyenne, à extrémités tronquées, souvent disposés en longs filaments.

Très mobiles.

Sur plaques. — Colonies rondes, à grains fins, à bords lisses, colorées en rouge brun au centre.

Liquéfiant.

Développement très lent, à basses températures seulement.

Bacterium sulfureum Holschewnikoff

Trouvé dans la vase des bassins de clarification de Wiesbaden.

Bâtonnets fins, à extrémités arrondies, de 0,5 μ de largeur moyenne, et 1,6 μ à 2,4 μ de longueur.

Lentement mobile.

Sur plaques. — Ne s'obtient que sous une couche d'huile stérilisée. Au bout de quarante-huit heures, petites colonies punctiformes nettement circonscrites, liquéfiant lentement la gélatine en arrivant à la surface; la liquéfaction marchant plus lentement que l'évaporation de la gélatine, il se fait de petits cônes aigus remplis d'air.

Développement lent sur gélatine à 20°.

Plutôt anaérobie, mais cependant aérobie facultative.

Bacillus tremelloïdes Scho telius

Trouvé fréquemment par Tils dans l'eau des conduites de Mösle et de Herdern à Fribourg.

Petits bâtonnets d'environ 0,75 μ à 1 μ de long et 0,25 μ de large, à extrémités arrondies, fortement unis les uns aux autres par une substance intercellulaire très ferme.

Mobiles.

Sur plaques. — Colonies profondes punctiformes, jaunes, à bords lisses. Colonies superficielles constituées au début par de petits amas jaunes proéminents, puis s'étendant dans tous les sens, à bords lisses, irrégulièrement échancrés. La colonie est formée par de petits amas de bacilles réunis en peloton.

Liquéfaction tardive débutant au bout de huit à dix jours.

Bacillus violaceus Frankland

Dans l'eau exclusivement.

Bâtonnets grêles à extrémités arrondies, de 1,5μ e long sur 0,8μ de large. Quelquefois des filaments.

Mouvements lents vibratoires et rotatoires.

Sur plaques. — Colonies apparaissant d'abord comme des bulles d'air emprisonnées dans la gélatine. A un faible grossissement on voit des amas irréguliers à bords confus, comme fibreux. Les colonies superficielles plus développées ont des bords circulaires nets, fortement réfringents, séparant la partie liquéfiée de la gélatine de la portion solide. Au fond du cône de liquéfaction les colonies ont une teinte violette bleuâtre et une texture granuleuse.

Développement modéré à une température peu élevée.

Liquéfaction rapide.

Trouble le bouillon et donne un sédiment violet.

Ce bacille, qui a été trouvé dans l'aqueduc de Berlin (Spreewassaleitung), et dans celui de Londres (Frankland), se distingue du *B. violaceo* décrit par Plagge et Proskauer *(Zeitsch. f. Hyg.*, Bd. II), et du *B. Janthinus* (Zopf), par son peu de développement sur la pomme de terre et par la liquéfaction rapide de la gélatine. Il réduit les nitrates en nitrites.

Bacillus violaceus Laurentius Nov. spec.

Trouvé dans l'eau sortant des bassins de filtration de Lawrence.

Bacilles assez longs, grêles, à extrémités arrondies, de 3 à 3,6 μ de long sur 0,7 μ de large, en couples ou en chaînes de 4-5 éléments. Pas de spores.

Très mobiles.

Sur plaques. — Au bout de deux jours, petites colonies profondes, rondes, granuleuses, à gros grains, à centre foncé et à bords radiés. Les colonies superficielles s'étalent en une petite couche mince et irrégulière, à centre violet, entouré d'une zone de gélatine liquéfiée légèrement trouble; le centre arrondi et violet n'augmente pas de volume.

Liquéfaction très rapide.

Dans le bouillon. —Trouble très léger, apparaissant lentement ; dans celui qui renferme des nitrates le développement est beaucoup plus luxuriant et il se produit une riche couleur violette.

Le lait constitue un excellent milieu de culture, il prend une teinte violet bleu foncé et se coagule avec réaction fortement acide.

Réduit lentement les nitrates.

Bacillus viscosus G. et P. Frankland

Dans l'eau de rivière non filtrée et dans le sol.

Bacilles de 1,5 μ à 2 μ de long, trois à quatre fois plus longs que larges, à extrémités arrondies, ordinairement par deux.

Sur plaques. — Au début, disques à bords lisses, finement granuleux; plus tard, les colonies étant devenues superficielles, on constate à un faible grossissement des bords frangés avec de fins prolongements piliformes ; liquéfaction

rapidement envahissante, zone périphérique à fluorescence verte.

Développement très rapide à la température de la chambre.

A été trouvé dans un aqueduc par G. et P. Frankland *(Zeitsch. f. Hyg.*, 1889) ; semble, au premier abord, identique au *B. fluorescens liquefaciens* (Flügge) ; n'a pas de pouvoir réducteur.

LIQUÉFIANT LA GÉLATINE, NE PRODUISANT PAS UNE MATIÈRE COLORANTE

Bacillus albus putidus MASCHEK

B. putrido bianco de Lustig.

Dans l'eau exclusivement.

Petits bâtonnets formant des filaments.

Mobiles.

Sur plaques. — Colonies rondes, blanches, ne dépassant pas la surface, apparaissent à un faible grossissement avec une coloration brun clair, entourées d'une aréole claire qui, au bout de quatre jours, a une largeur de 5 millimètres.

Odeur ichoreuse intense.

Liquéfaction rapide.

Développement rapide à la température de la chambre.

Bacillus aquatilis G. ET P. FRANKLAND

Trouvé dans l'eau des sources profondes de la craie de la Compagnie de Kent.

Bâtonnets grêles de 2,5 μ de long, formant souvent des filaments ayant jusqu'à 17 μ de longueur.

Mouvement oscillatoire ou même, pour certains auteurs (Lustig), pas de mouvements propres.

Sur plaques. — Au début, colonies rondes, lisses, irré-

gulièrement limitées, liquéfaction lente. A un faible grossissement, centre brun jaune d'où partent des faisceaux embrouillés de fils de couleur brun jaune, mais qui vont en se décolorant à la périphérie.

Développement très lent à la température de la chambre.

Trouble le bouillon avec formation d'un sédiment blanc.

Réduit l'acide nitrique en ammoniaque.

Bacillo arbuscello Maschek

(Baumchen Bacillus).

Bacilles réunis en filaments incurvés.

Légers mouvements actifs.

Sur plaques. — Colonies jaune blanc, qui se ramifient en un point. Croissance égale dans la profondeur et à la surface.

En piqûre. — Au bout de vingt-quatre heures, le long du canal d'inoculation, on voit un nombre considérable de petits rameaux blancs, de sorte que la culture prend l'apparence d'un arbrisseau. Plus tard, toute la gélatine se liquéfie en développant une odeur de pêche pourrie.

Développe une vive fermentation dans les liquides sucrés.

Décrit par Maschek.

Bacillus butyricus Hueppe

Bacilles plus ou moins longs, quelquefois recourbés ou s'accroissant en filaments.

Mouvements vifs.

Sur plaques. — Dans la profondeur on voit des grumeaux jaunes qui confluent en formant une masse brune qui liquéfie rapidement la gélatine, ce qui ne permet pas l'observation d'un développement ultérieur.

Température optimum = 35°-40° centigrades, moins bonne à 30° centigrades.

Hueppe (*Mittheilungen a. d. K. Ges.-Amt.*, Bd. II), qui l'a décrit le premier, a trouvé que ce bacille coagule la caséine du lait et forme des peptones, de la leucine, de la tyrosine et d'autres produits tels que l'ammoniaque; le lait devient amer.

A été trouvé dans l'eau par divers auteurs.

Bacillus cir ulans Nov. spec.

Trouvé occasionnellement dans les eaux de Lawrence (du Mérimac).

Longs bacilles grêles à extrémités bien arrondies, de 2 à 5 μ de long sur 1 μ de large, généralement isolés, mais parfois réunis lâchement bout à bout, par deux ou par quatre. Spores apparaissant au bout de trois à quatre jours à l'extrémité des bâtonnets, petites, ovales (surtout sur agar et pomme de terre).

Mouvement vif des bacilles isolés.

Sur plaques. — En quarante-huit heures, colonies rondes, brunâtres, visibles à l'œil nu; la gélatine se liquéfie rapidement et, à un faible grossissement, on observe constamment, dans toute la masse fluide, une sorte de circulation analogue à celle du protoplasma, qui est due au mouvement rapide de déplacement de chacun des bacilles. Au bout de trois jours, ce mouvement cesse ordinairement, et l'intérieur de la colonie fluidifiée a une apparence granuleuse avec des flocons de bactéries disséminées çà et là. Il se forme enfin une dépression arrondie, profonde, uniforme, qui s'étend très lentement, mettant plusieurs semaines à atteindre 1 centimètre de diamètre. Tantôt les contours de la colonie sont lisses, ce qui est le cas le plus ordinaire, et tantôt lobés.

Liquéfie hâtivement la gélatine.

Dans le bouillon. — Trouble au bout de trois à quatre jours; précipité abondant, visqueux, pas de pellicule à la surface.

Température optimum = 37° centigrades.

Coagule très lentement le lait ; réduit tardivement les nitrates en nitrites au bout de quinze à vingt jours.

La circulation des bactéries dans l'intérieur des colonies considérée d'abord comme caractéristique pour cette espèce, a ensuite été retrouvée dans d'autres espèces nouvelles telles que *B. cloacæ*, *B. delicatulus*, etc., que je décris aussi.

Bacillus delicatulus Nov. spec.

Trouvé souvent à la sortie des bassins de filtration de Lawrence.

Gros bacilles de 2μ de long sur 1μ de large, souvent par couples ou en courts filaments, non sporifères.

Très mobiles.

Sur plaques. — Colonies jaunes blanchâtres, homogènes, à bords radiés, réguliers ; plus tard, centre plus foncé que la zone périphérique.

Liquéfie la gélatine en quarante-huit heures à la température ambiante.

Dans le bouillon. — Trouble rapide, précipité blanc et écume blanche.

Température optimum = 37° centigrades.

Coagule le lait avec forte réaction acide.

Réduit rapidement et complètement les nitrates en nitrites.

Cette espèce est extrêmement sensible aux températures relativement basses, c'est ainsi qu'elle ne se développe pas à 15° environ ; elle perd sur les milieux de culture très rapidement sa vitalité.

Bacillus dendriticus Bordoni-Uffreduzzi

Trouvé dans l'eau potable de Turin à la colline de Saint-Maurice.

Bacilles courts, aux extrémités arrondies ; dans les cul-

tures jeunes se réunissent en zooglées de huit, dix, trente individus et même davantage.

Mouvements vifs d'oscillation autour du grand axe.

Sur plaques. — D'un point central légèrement relevé partent huit à dix ramifications larges de 2 millimètres, qui toutes se divisent et se subdivisent en s'irradiant de l'intérieur et en confluant avec les voisins, d'où un aspect élégant de la colonie qui peut être comparé à une dendrite.

La couleur est très blanche, plus marquée au centre et dans les autres points de la colonie, où l'épaisseur est plus grande ; aspect luisant et humide ; la colonie est légèrement filante lorsqu'on en saisit une parcelle avec une aiguille.

Les bords sont nets. Regardée par transparence, la colonie, surtout sur les bords des ramifications où la minceur est plus grande, présente des reflets bleuâtres. En vieillissant, les ramifications confluent entre elles et forment une couche blanc grisâtre uniforme.

Léquéfaction très tardive survenant dans les vieilles cultures seulement au bout de quarante à soixante jours ; elle débute par un ramollissement du centre de la colonie, puis survient une véritable fusion de la gélatine.

Dans le bouillon. — A 22° centigrades, trouble marqué et production d'une membrane superficielle blanche et rude, très humide et tellement adhérente aux parois du ballon, qu'on peut tourner celui-ci sens dessus dessous sans renverser le bouillon. A 37° centigrades, il se produit seulement un léger trouble qui reste stationnaire et il n'apparaît pas de voile. Dans le bouillon glycériné à 22° centigrades le développement se fait comme précédemment, mais à 37° il se forme un voile plus épais et moins constant qui tombe toujours au fond.

Température optimum = 20°-22° centigrades.

Le développement est souvent nul à 37° centigrades.

Bacillus devorans Zimmermann

Dans une source de Lichterwald, utilisée par de nombreuses personnes.

Courts bâtonnets arrondis aux deux extrémités formés de un à deux articles, rarement d'un plus grand nombre. La grosseur d'un bâtonnet est d'environ 0,74 μ, la longueur de 0,99 à 1,5 μ.

Très vive mobilité.

Sur plaques. — Aussi longtemps que les colonies sont encore enveloppées de gélatine, elles se montrent sous la forme de petites boules blanches ; les colonies superficielles siègent au fond d'une dépression conique de la gélatine sous forme d'une masse blanche, mais non homogène, irrégulièrement arrondie. Sous un faible grossissement, cette dernière se présente à l'état d'amas globulaire de bactéries, gris jaune, granulo-fibreux à l'intérieur, qui présente tout autour des extrémités fibreuses, tantôt plus, tantôt moins longues.

Se développe à 30° centigrades, notablement mieux qu'à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Liquéfie lentement et progressivement.

Bacillus filiformis Tils

Trouvé fréquemment par Tils, en automne, dans les trois conduites de Fribourg.

Gros bacilles de 4 μ de long sur environ 1 μ de large, presque toujours réunis entre eux jusqu'à former des filaments de dix articles, dans lesquels la division en bâtonnets est difficile à reconnaître.

Les bâtonnets isolés ou réunis par deux ou trois ont un

mouvement oscillatoire, tandis que les longs filaments sont immobiles.

Sur plaques. — Colonies profondes, blanchâtres, à bords irréguliers, à grains fins. Colonies superficielles représentées au bout de trois jours par des dépôts blanchâtres, aplatis, avec des rayures. A un faible grossissement, bord irrégulier, dentelé, formé par des faisceaux de bacilles serrés et ondulés ; cette ondulation disparaît vers le centre qui prend un aspect granuleux, rugueux.

Centre jaunâtre, périphérie incolore.

Liquéfaction lente et tardive au bout de quelques jours.

J'ai rencontré dans les eaux de la Saône, à Lyon, au mois d'octobre, une espèce qui ressemble singulièrement au *B. filiformis*, de Tils, et à laquelle j'avais provisoirement donné le nom de *strepto-bacille*.

Bacillus gasoformans Eisenberg

Produisant un gaz.

Trouvé dans l'eau.

Petits bâtonnets très mobiles, à extrémités arrondies.

Sur plaques. — Au bout de deux jours, il se forme des dépressions assez grandes, cupuliformes, avec liquéfaction rapide ; à un faible grossissement, on y voit un contenu grisâtre et souvent des bulles de gaz.

Développement très rapide, mais seulement à une température peu élevée.

Anaérobie facultatif.

Bacillus gracilis Zimmermann

Dans l'eau des conduites de Chemnitz.

Longs bâtonnets, rarement complètement droits, généralement arqués et arrondis aux deux extrémités, ou en longs filaments qui sont habituellement coudés ou plusieurs fois

recourbés d'un côté et de l'autre. Le diamètre des bâtonnets ou filaments est d'environ 0,77 μ, la longueur d'un bâtonnet de 2,5 à 3,6 μ.

Mouvement rotatoire et oscillatoire.

Sur plaques. — La colonie enveloppée de gélatine se montre sous la forme d'un petit corpuscule gris blanchâtre, d'abord nettement limité, dont les contours deviennent incertains en s'agrandissant. Sous un faible grossissement, disque jaune pâle, à contour net, qui s'entoure peu à peu de prolongements fibrillaires très serrés ; ces appendices, d'abord ténus, forment plus tard un tissu serré, qui efface complètement la limite entre la colonie et la gélatine. La colonie n'arrive pas à la surface ou seulement sous forme d'une petite gouttelette gris jaunâtre. Au bout d'environ cinq jours, la colonie a un diamètre de 4 à 6 millimètres, est circulaire et possède un centre presque circulaire, gris bleuâtre, nébuleux, autour duquel s'étendent, à une distance plus ou moins grande, un ou deux anneaux nébuleux, concentriques.

Ne se développe pas à température élevée.

Développement lent.

Liquéfie.

Bacterium graveolens BORDONI-UFFREDUZZI

Trouvé par Tils en été dans l'eau de Herden ; habite ordinairement l'épiderme placé entre les orteils.

Bâtonnets ovales de 0,8 μ de long.

Mobiles.

Sur plaques. — Colonies profondes de forme irrégulière, généralement ovales, de teinte jaunâtre, à contours nets. Colonies superficielles à contours irréguliers, à couleur variant du blanchâtre au gris.

Liquéfaction très rapide de la gélatine et développement

d'une odeur infecte, ressemblant à celle de la sueur des pieds.

Bacillus guttatus ZIMMERMANN

Dans l'eau des conduites de Chemnitz.

Courts bâtonnets arrondis aux extrémités, de 0,93 μ d'épaisseur, et 1 à 1,13 μ de longueur, d'abord généralement isolés ou réunis par deux, plus tard en plus grand nombre.

Mobilité vive.

Sur plaques. — La colonie enveloppée de gélatine se présente sous la forme d'un petit corpuscule rond, blanc gris; étendue à la surface, sous la forme d'une gouttelette gris bleuâtre. Sous un faible grossissement, la première montre un disque circulaire, à contour net, finement granulé, du gris brunâtre au bleu brunâtre; la colonie superficielle laisse seulement reconnaître au centre une lueur brûnâtre et devient incolore vers le bord également nettement limité. Elle ne se distingue de la gélatine entourante que par une moindre transparence. Le contour, d'abord complètement circulaire, devient parfois un peu irrégulier.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Liquéfie peu à peu.

Bacillus hyalinus NOV. SPEC.

Trouvé dans le sable des filtres de Lawrence.

Bacilles longs et larges, forts, à extrémités arrondies, d'environ 3,6 μ à 4 μ long sur 1,5 μ de large. Ordinairement en filaments courts.

Très mobiles.

Sur plaques. — Développement rapide; colonies visibles à l'œil nu au bout de vingt-quatre heures. Centre foncé,

entouré d'une large zone translucide. A un faible grossissement, l'intérieur de la colonie est comme fibrillaire, avec de courtes fibrilles rayonnant du bord. En deux jours, les colonies atteignent environ 1 à 1,5 centimètre de diamètre, avec un contour régulièrement arrondi, un intérieur légèrement translucide et un bord distinct, opaque, jaunâtre, montrant encore des fibrilles radiaires.

Liquéfie rapidement la gélatine.

Température optimum = 37° centigrades.

Coagule fortement le lait au bout de sept jours en donnant un précipité floconneux et une pellicule épaisse à la surface.

Réduit rapidement et vigoureusement les nitrates.

Bacillus implexus ZIMMERMANN

Dans l'eau des conduites de Chemnitz,

Grands et gros bâtonnets d'environ 1,15 μ de diamètre, et environ 2,5 μ de long, à extrémités tronquées; forment en général de longs fils articulés.

Immobile.

Sur plaques. — Déjà au bout de vingt-quatre à trente-six heures, colonies blanches, punctiformes. Sous un faible grossissement, taches granulées, foncées, irrégulières, plus claires vers le bord. Sous un grossissement de 175 fois, on aperçoit des fils qui s'entrelacent, dépassent le bord, se replient, s'entrelacent de nouveau, etc. Au bout de trois jours, la colonie circulaire s'est enfoncée de tous côtés et apparaît alors à la loupe sous forme d'une masse de fils blancs, fins, entrelacés ou feutrés.

Se développe le plus rapidement vers 30° centigrades.

Développement assez rapide.

Liquéfie.

Bacillus liquefaciens Eisenberg

Dans l'eau des conduites de Fribourg (Allemagne).

Bâtonnets courts, trapus, à extrémités arrondies.

Très mobile.

Sur plaques. — Colonies rondes à bord lisse, masse muqueuse blanche au centre ; la liquéfaction commence en forme de coupe et marche rapidement. Au bout de quelque temps, odeur putride.

Développement très rapide, mais seulement à une température peu élevée.

Donne dans le bouillon un sédiment très abondant.

Bacillus liodermos Loffler

Gummi-Bacillus

Bacilles courts avec les extrémités arrondies.

Mouvements très vifs.

Sur plaques. — Colonies à contours irréguliers nageant comme une mince membrane sur la gélatine liquéfiée.

Décrit par Flügge et par Adametz *(loc. cit.)*, qui l'ont trouvé dans l'eau.

Bacillus liquidus G. et P. Frankland

Très fréquent dans l'eau de rivière non filtrée.

Bacilles courts, gros, à extrémités arrondies, ordinairement accouplés, chaque couple ayant 1,4μ à 3,5μ de longueur.

Très mobile.

Sur plaques. — A un faible grossissement, les colonies profondes forment des disques circulaires à bord lisse; quand la liquéfaction commence, le bord devient granuleux et dentelé, tandis que le centre est foncé. Liquéfiant.

Développement extrêmement rapide à la température de la chambre.

Trouble le bouillon et forme une pellicule superficielle.

Réduit les nitrates.

D'après San Felice est une variété du *Proteus vulgaris*, liquéfiant rapidement la gélatine.

Bacillus megaterium DE BARY

Trouvé par Tils dans l'eau des conduites de Fribourg.

Gros bâtonnets un peu arqués, de 8 à 9 μ de long sur 2,5 μ de large, à extrémités arrondies.

Mouvements de reptation.

Sur plaques. — Petites colonies arrondies à contour net.

Liquéfie lentement la gélatine.

J'ai rencontré cette espèce dans les eaux du Rhône.

Bacillus mesentericus vulgatus FLUGGE

Kartoffel-Bacillus.

Air et eau.

Bâtonnets de taille très variable suivant les milieux, ayant d'ordinaire 2 à 4 μ de long sur 1 μ de large, légèrement arrondis à leurs extrémités, souvent en longs filaments.

Mobile. Mouvements ondulatoires.

Sur plaques. — Au bout de vingt-quatre heures à 20° centigrades, petite tache blanche opaque arrondie ; au bout de quarante-huit heures, autour de la tache blanche, zone plus claire, presque transparente, formée de la gélatine liquéfiée et de filaments de bacilles ; des bords de cette zone nettement découpés, partent comme une auréole un grand nombre de fins filaments rayonnés (Vignal) (fig. 55).

Liquéfaction rapide.

Croît bien à la température ambiante.

Dans le bouillon forme en quarante-huit heures une belle membrane à la surface du liquide, d'abord mince, puis épaisse et à très nombreux plis qui deviennent de plus en plus considérables. Le bouillon s'éclaircit au-dessous.

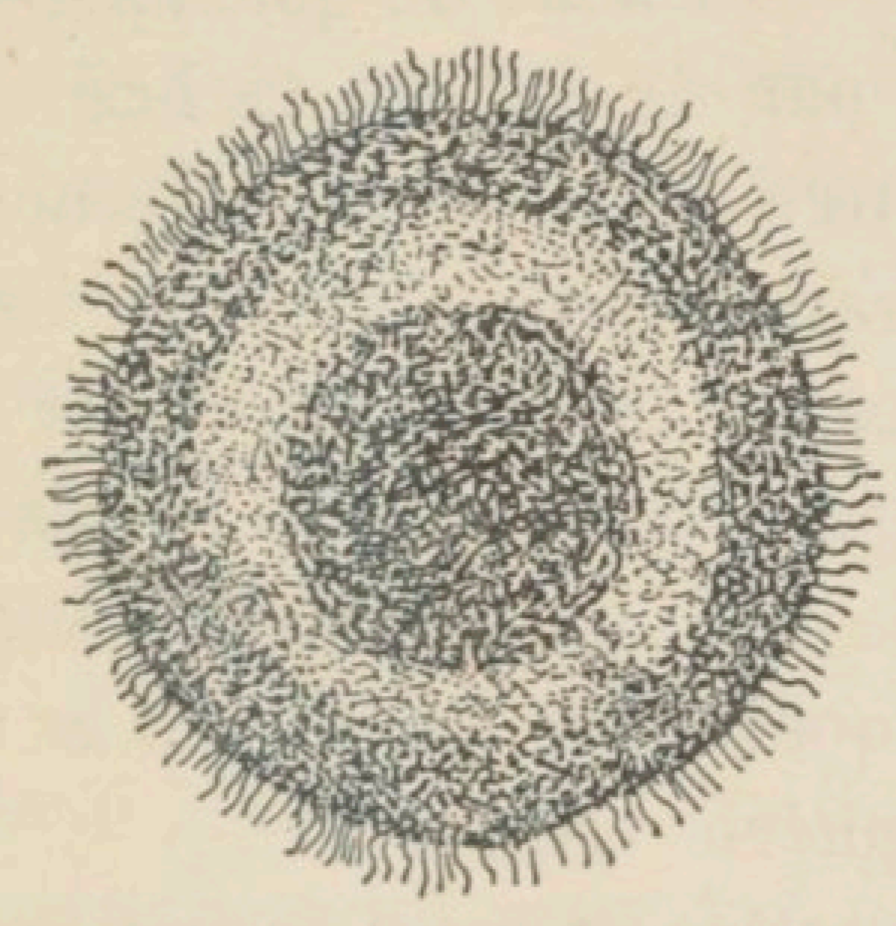


FIG. 55. – Jeune colonie de *Bacillus mesentericus vulgatus* sur plaque de gélatine.

Vignal *(loc. citat.)* a trouvé cette espèce en assez grande abondance dans les eaux les plus variées : de la Vanne, de la Seine, de plusieurs puits, d'un ruisseau.

Bacillus mesentericus fuscus FLUGGE

Fréquemment dans l'eau.

Bacilles courts, souvent deux à quatre individus groupés ensemble.

Mouvements très vifs.

Sur plaques. — Colonies rondes, blanches, devenant ensuite plus obscures, avec des prolongements délicats, à surface granuleuse.

Liquéfaction rapide.

Bacillus mesentericus ruber GLOBIG
(Bacille rouge de la pomme de terre)

Très commun dans l'air et dans l'eau et se développe facilement sur les pommes de terre cuites.

Batonnêts de 2,2 μ de long sur 0,8 μ d'épaisseur, rarement isolés, le plus souvent unis par 3 ou 4 ; produisent des spores ovoïdes plus larges qu'eux, très résistantes.

Mobilité peu vive.

Sur plaques. — Au bout de quarante-huit heures, colonies représentées par de petites taches circulaires, granuleuses, dont le centre est légèrement jaunâtre, tandis que la périphérie reste transparente. Au troisième jour, de petites houppes partent des bords de la colonie et divergent en tous sens, constituées par des filaments brisés dont les articles sont réunis à angle droit ou obtus. Au cinquième jour apparaît une zone de liquéfaction qui sépare le centre foncé de la colonie de sa périphérie radiée.

Liquéfaction complète au bout de huit jours.

Dans le bouillon, en douze heures, à l'étuve, formation d'un voile assez épais, au-dessous duquel le liquide brunit.

Sur pomme de terre, la culture acquiert en vingt-quatre heures une coloration blanc-rosé et les vieilles cultures ont une odeur de jambon cuit.

Matière colorante insoluble dans alcool et éther.

Cette espèce a été bien décrite par Globig (*Zeitschr. f. Hyg.*, III, 1888, p. 322) et étudiée aussi la même année par Legrain (*Revue médic. de l'Est*, 1888, p. 595).

Bacillus mycoides Flugge

Très fréquent dans la terre des champs et des jardins, aussi dans l'eau.

Bacilles assez gros, généralement reliés en longs fils, de 1,6 à 2,4 μ de long, et environ 0,9 μ de diamètre. La coloration fait ressortir très nettement les limites de chaque bâtonnet. En général ils s'entrelacent en cordons serrés.

Mobile.

Sur plaques. — La culture apparaît d'abord sous la forme d'une opacité blanche, dans laquelle se voient bientôt des fils blancs, fins, entrelacés. De très bonne heure il se produit des ramifications mycéliennes, et le tout fait l'impression d'une moisissure. Tant que les formations constituées par des faisceaux de fils bacillaires sont entourées par la gélatine, elles restent minces et délicates; dès qu'elles arrivent à la surface, elles s'étendent, perdent leur contour net et liquéfient la gélatine.

Se dévelope le mieux à la température de la chambre.

Développement très rapide.

Liquéfie.

A été trouvé dans la grêle par Foutin. Je l'ai rencontré en grande abondance dans des eaux de Lorient.

Bacillus nubilus G. ET P. FRANKLAND

Trouvé dans l'eau filtrée de Londres.

Bâtonnets minces, grêles, d'environ 3 μ de long sur 0,3 μ de large, isolés ou en chaînettes, ces dernières souvent enroulées en spirale.

Mouvement circulaire sans déplacement.

Sur plaques. — Au bout d'environ quarante-huit heures, petites taches troubles ne se séparant pas nettement de la gélatine ; apparaissent très délicates à un faible grossissement, et formées par un réseau feutré de filaments bacillaires ; au centre l'amas est plus dense et se continue sans ligne de démarcation avec le réseau de fils.

Liquéfaction tardive, mais rapide à partir de son début.

Développement lent à la température de la chambre.

Donne dans le bouillon un sédiment blanc sale.

Réduit l'acide nitrique.

Bacillus phosphorescens indicus Fischer

Trouvé dans l'eau de mer.

Bâtonnets petits, mais gros, deux à trois fois plus longs que larges, à extrémités amincies, arrondies, formant aussi des filaments.

Très mobile.

Sur plaques. — Au bout de trente-six heures, petits points ronds, blanc gris. A un faible grossissement, colonies circulaires à bord net, de couleur vert de mer, avec reflet rosé; plus tard, les colonies deviennent nettement granuleuses, jaune sale et montrent un bord légèrement ondulé, paraissant comme retroussé.

Liquéfiant.

Température optimum = 20°-30° centigrades.

Développement très lent.

Bacillus phosphorescens indigenus Fischer

Dans l'eau du port de Kiel et sur les harengs verts.

Bâtonnets gros, courts, dont les extrémités légèrement effilées sont arrondies (plus court, mais aussi plus gros que le *B. phosph. indicus)*, long de 1,3 μ à 2,1 μ et large de 0,4 à 0,7 μ, la plupart en voie de segmentation, ou disposés par deux, souvent courbes, parfois simulant des filaments plus ou moins longs, rectilignes ou irrégulièrement recourbés.

Très mobile.

Sur plaques. — Au bout de quelques jours, dépression de la gélatine tout autour de la colonie. Au bout d'une semaine, pertes de substance circulaires, à bord net, comme enlevées à l'emporte-pièce, de 1 millimètre de diamètre, remplies d'air; au fond est la colonie mince, de la grosseur

d'une tête d'épingle, discoïde, jaune sale. A un faible grossissement, les jeunes colonies sont circulaires, à bord net, de teinte pâle vert de mer et semées de granules isolés à reflet rougeâtre; les vieilles sont jaune gris sale, avec des grumeaux irréguliers.

Liquéfaction progressive, plus lente que celle du *B. phosph. indicus.*

Développement encore plus lent que celui du *B. indicus* à 5°-10°. Phosphorescence disparaît à 32°.

Bacillus punctatus Zimmermann

Fréquemment dans l'eau des conduites de Chemnitz, également dans celle de Döbeln.

Bâtonnets moyens, formés d'un, deux, rarement plusieurs articles. Le diamètre d'un bâtonnet est en moyenne de 0,77 μ. La longueur des bâtonnets en voie de vive multiplication varie entre 1 et 1,6 μ. Prend mal les colorations habituelles.

Mobilité très vive.

Sur plaques. — La colonie, le troisième jour, liquéfie déjà en forme de coupe, de 12 millimètres de diamètre. Dans le liquide bleu gris, se trouvent des amas bactériens blanchâtres, punctiformes, souvent reliés par des lignes blanchâtres, assez uniformément distribués.

Se développe mieux à 30° centigrades qu'à la température de la chambre.

Développement très rapide.

Liquéfie.

Bacillus putrificus coli Bienstock

Trouvé par Tils dans la conduite de Herdern à Fribourg.

Bâtonnets grêles, de longueur variée, souvent réunis en

longs filaments, prennent la forme de baguettes de tambour lorsque les spores se sont développées à l'une des extrémités.

Très mobiles.

Sur plaques. — Au bout de trois jours, apparition de colonies incolores, à éclat nacré à la lumière oblique ; les contours apparaissent nets à un faible grossissement avec des échancrures irrégulières. Centre grossièrement granuleux, jaunâtre, filaments ondulés à la périphérie moins colorée.

Liquéfaction de la gélatine survenant au bout de quelques jours.

Bacillus radiatus aquatilis Zimmermann

Dans l'eau des conduites de Chemnitz.

Bâtonnets moyens et longs, d'environ 0,65 μ de grosseur; les plus courts mesurent environ 1 μ, les plus longs jusqu'à 6,5 μ.

Les plus courts bâtonnets montrent seuls une légère mobilité.

Sur plaques. — Au bout de deux jours, apparaissent dans la gélatine des taches gris bleu blanchâtre, irrégulièrement circonscrites, souvent avec un point blanc au centre ; sous le microscope elles ont un aspect en forme de racines, montrant des ramifications simples ou multiples, et ressemblant par là à des myceliums de moisissure. Au bout de trois jours les taches sont approximativement circulaires et ressemblent sous le microscope à de petits flocons globulaires de laine, laissant sortir autour de fines fibrilles. Finalement la gélatine est percée en un point et une ou plusieurs petites gouttelettes limpides comme de l'eau sortent à la surface. Au bout de quatre jours, la gélatine est liquéfiée en forme de conque. Au centre se trouve un amas circulaire d'une masse bactérienne blanc jaunâtre de couleur crème; autour de cet

amas s'étend un anneau de la même masse, généralement d'une teinte encore plus intense, envoyant des rayons délicats vers la périphérie de la dépression.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Liquéfie.

Bacille radicicole EISENBERG

Trouvé par Tils dans l'eau des conduites de Fribourg.

Bacilles courts, à extrémités arrondies, souvent réunis en filaments de longueur variée.

Mouvements légers.

Sur plaques. — Au bout de deux jours colonies blanchâtres, non nettement limitées, puis se développant rapidement en prenant l'aspect d'un mycelium; à un faible grossissement, la colonie apparaît comme constituée par un réseau sinueux et entrelacé de fils.

Liquéfie la gélatine.

Bacillus ramosus

Trouvé dans l'eau de rivière et de fontaine.

Bacilles courts à extrémités arrondies, à peu près trois fois plus longs que larges, forme fréquemment de longues chaînes et filaments.

Très peu mobile.

Sur plaques. — Au bout de deux jours, colonies en forme de voile, pas nettement limitées, blanchâtres, s'étendant très rapidement, ressemblant à un mycélium; liquéfie au bout de quelques jours. A un faible grossissement, la colonie apparaît comme formée par un réseau de fils entrelacés (rameux).

Liquéfiant.

Développement rapide à 20° et à 35° centigrades.

Bacillus subtilis Ehrenberg

Se trouve fréquemment dans l'eau.

Bâtonnets cylindriques analogues à ceux du *B. anthracis*, mais un peu plus minces et arrondis aux extrémités, ayant jusqu'à 6 μ de long, environ trois fois plus longs que larges, se développant en longs filaments. Les bacilles ont un flagellum.

Mobile, à mouvements vacillants (fig. 56).

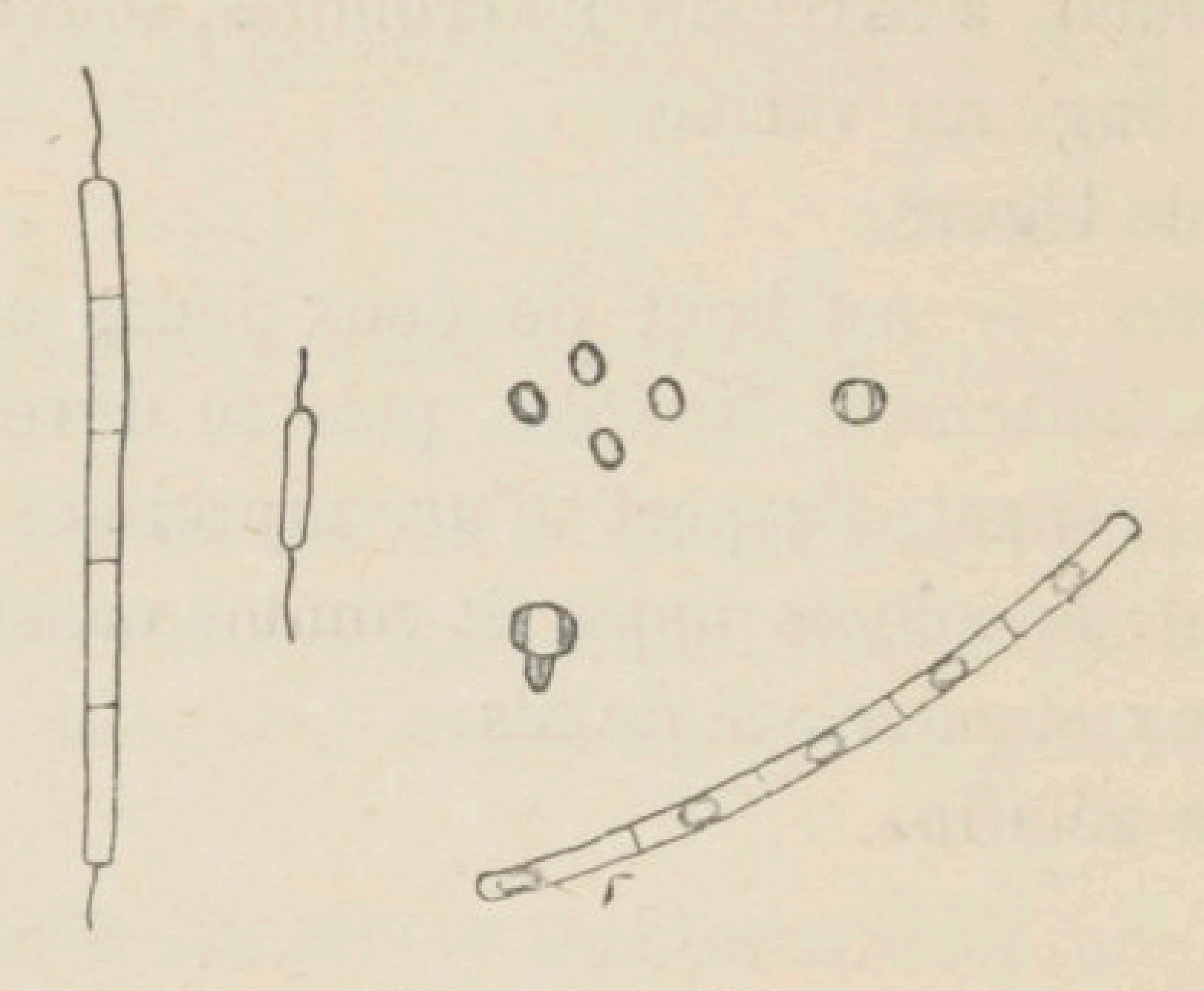


Fig. 56. — *Bacillus subtilis*, bâtonnet isolé avec cils. Chaîne de bâtonnets. Spores dans un filament. Spores libres. Spore germant, 1200/1.

Sur plaques. — Colonies liquéfiantes avec couronne radiaire et contenu blanc, clair, en forme d'étoile de mer.

Sur gélatine en piqûre, le cône de liquéfaction a au début la forme d'un têtard.

Température optimum = 30° centigrades.

Développement rapide.

Donne dans le bouillon un voile épais, cohérent, ridé, et dans le fond un léger dépôt blanc, formé presque exclusivement de spores.

D'après San Felice, à cette espèce, appartiennent toutes les variétés des bacilles de la pomme de terre, décrites comme espèces, et toutes les variétés des bacilles de l'eau

qui donnent des spores. Le *B. subtilis* a quelques points de ressemblance avec le *B. anthracis* (fig. 57) avec lequel Büchner l'avait à tort identifié. Les caractères de culture

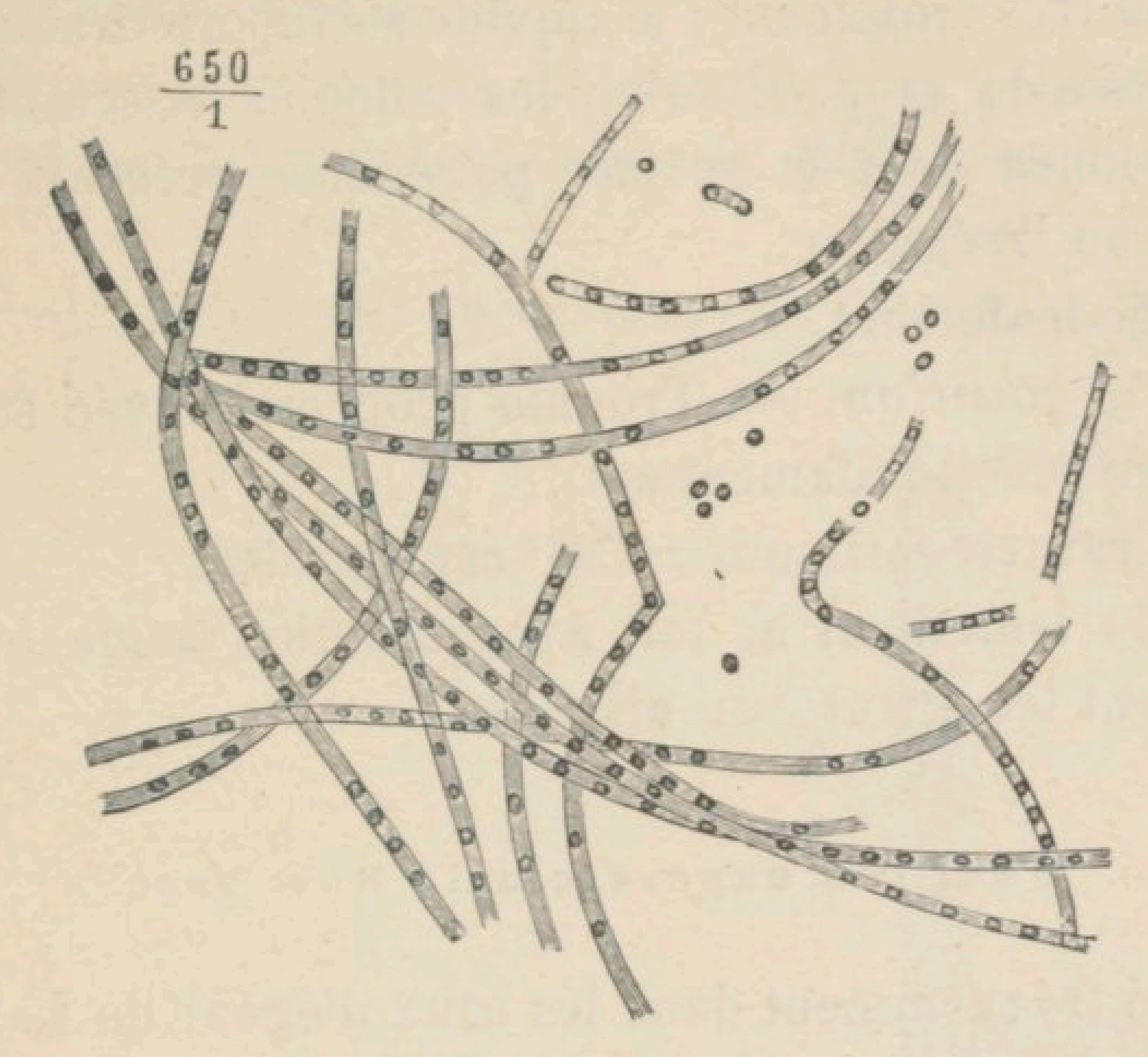


Fig. 57. — Filaments sporifères de *Bacillus anthracis*.

et surtout l'action pathogène du second de ces microorganismes sur les animaux, action que ne possède nullement le premier (Wyssokowitsch), suffisent à le différencier.

Bacillus reticularis Nov. spec.

Trouvé à la sortie d'un des bassins de filtration de la ville de Lawrence.

Longs bacilles minces à extrémités arrondies, de 5μ de long sur 1μ de large, assez souvent en filaments de huit ou dix individus lâchement unis; vacuoles assez fréquentes pouvant en imposer pour des spores.

Légers mouvements sinueux, jamais très vifs.

Sur plaques. — Les jeunes colonies développées dans la profondeur de la gélatine envoient de tous côtés de longs filaments spiralés qui donnent à l'œil nu un aspect brumeux

et qui à un faible grossissement font ressembler les colonies à des méduses avec leurs tentacules flottants. En atteignant la surface, les colonies s'étendent irrégulièrement et la gélatine se liquéfie très lentement ; le liquide s'évaporant alors au fur et à mesure de sa production les colonies ressemblent à de petites coupes dont la surface pommelée présente l'aspect d'un réseau irrégulier.

Liquéfie lentement.

Dans le bouillon. — Trouble progressif avec formation d'un léger précité filamenteux.

Température optimum = 37° centigrades.

Coagule lentement le lait avec réaction acide et réduit rapidement les nitrates en nitrites.

Bacillus superficialis Nov. spec.

Trouvé fréquemment dans les eaux d'égout de Lawrence.

Gros bacilles, à extrémités arrondies, isolés ou par couples.

Mobiles.

Sur plaques. — Colonies visibles à l'œil nu au bout de deux jours environ. A un faible grossissement, colonies à peu près rondes, mais divisées en fragments angulaires par des lignes irrégulières qui donnent à la colonie une apparence craquelée ; lorsqu'elles atteignent la surface de la gélatine, elles forment une expansion régulière, arrondie, homogène finement granuleuse ressemblant à une goutte translucide.

La colonie se développe alors lentement et liquéfie peu à peu la gélatine ; après quelques jours de liquéfaction on constate un centre opaque, brun jaunâtre et un bord translucide.

Liquéfie lentement.

Dans le bouillon. — Trouble apparaissant lentement ; au bout de quelque temps léger précipité blanc ; pas de voile.

Température optimum = 37° centigrades.

Ne réduit pas les nitrates (?)

Bacillus termo DUJARDIN

Très commun dans les eaux.

Bâtonnets trapus de 1,4μ de long sur 0,8μ de large ; réunis ordinairement par deux, parfois en chaînettes à plusieurs articles.

Mouvements très vifs ; peut-être cils vibratiles (Dallinger et Drysdale).

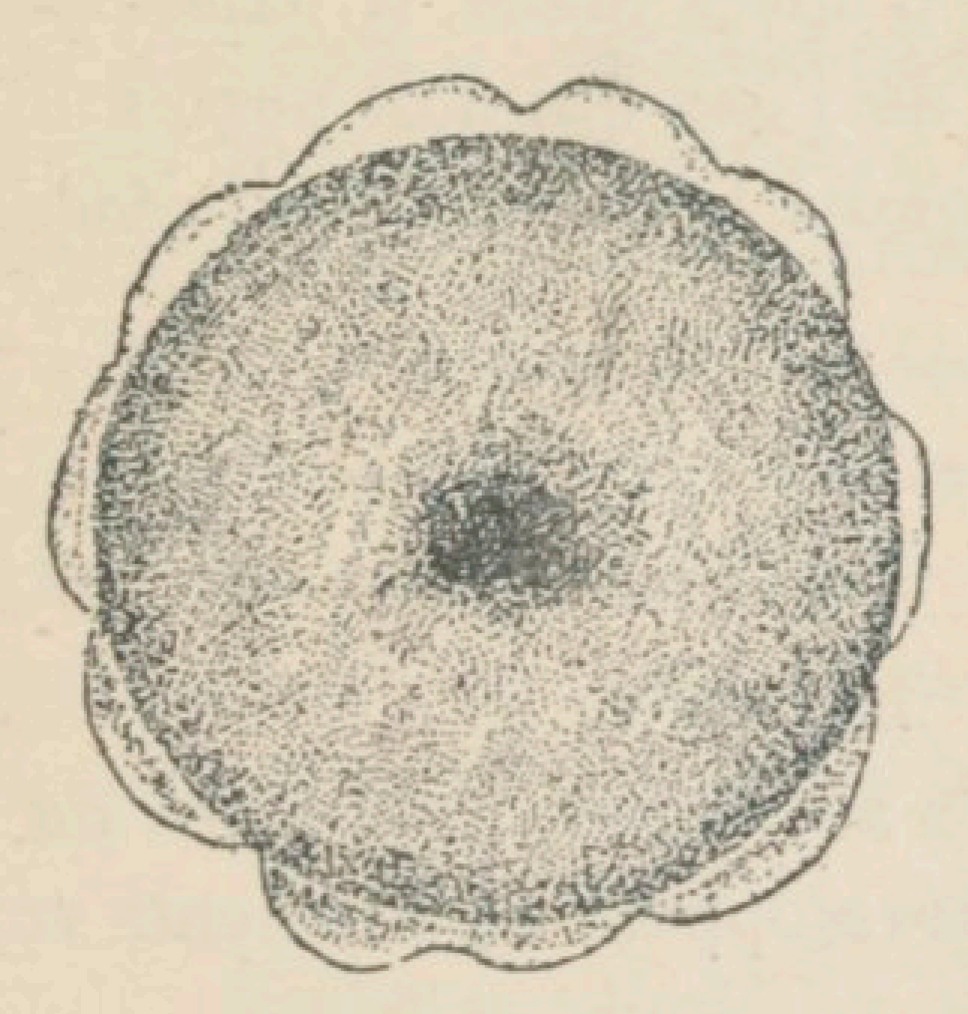


FIG. 58. — Colonie de *Bacillus termo* sur plaque de gélatine 50/1 d'après une photographie.

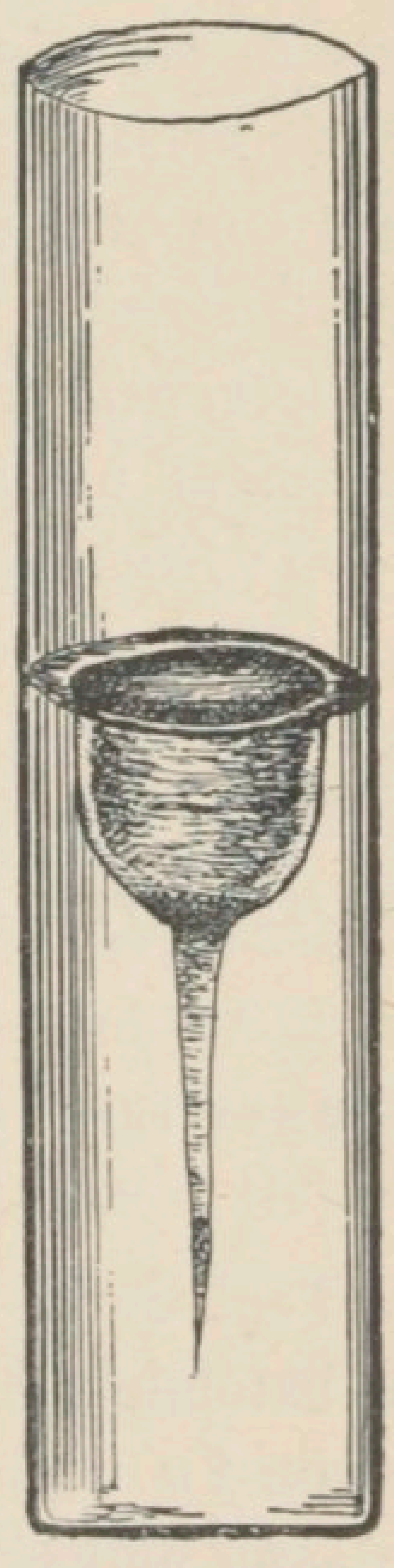


FIG. 59. — Culture de *Bacillus termo* dans la gélatine. Agée de deux jours.

Sur plaques. — En huit heures, petite colonie blanchâtre à périphérie grisâtre, trouble et entourée d'une zone de liquéfaction ; au bout de trois ou quatre jours on observe une tache circulaire blanc grisâtre, à centre opaque, floconneuse,

entourée d'un liquide légèrement trouble de 2 à 4 millimètres de diamètre; à la périphérie bordure pâle transparente, très sinueuse, parfois lobée, présentant à 20° des mouvements lents qui déplacent les lobes et donnent l'illusion d'une amibe (fig. 58). La colonie peut atteindre plus d'un centimètre de diamètre; quelquefois seulement teinte verdâtre de la gelée ambiante.

Liquéfaction très rapide et en forme de têtard dans la gélatine (fig. 59).

Dans le bouillon. — Trouble uniforme; léger voile de surface se brisant facilement et dépôt peu abondant au fond.

Agent très actif des putréfactions animales et végétales.

Aérobie strict.

Le *Bacterium termo* des anciens auteurs comprenait très probablement un assez grand nombre d'espèces différentes telles que : *Bacillus fluorescens liquefaciens*, *B. fluorescens putidus*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis* (Macé) que nous avons séparé ; mais d'après Macé, il existe bien en réalité dans l'eau une espèce de l'eau qui doit porter le nom de *Bacillus termo* et qui répond à la description précédente.

Bacillus vermicularis G. et P. Frankland

Dans l'eau de la Léa près Chingford.

Gros bâtonnets à extrémités arrondies, de 2 à 3 μ de long et environ 1 μ de large, se développant en filaments vermiformes assez longs.

Mouvement oscillatoire; les longs fils sont immobiles.

Sur plaques. — A la surface les colonies forment des dépôts plats à bord un peu irrégulier, lequel est constitué par des faisceaux ondulés, serrés, de bacilles, tandis que le centre est rugueux et plissé ; plus tard les colonies s'enfoncent un peu dans la gélatine en la liquéfiant lentement.

Se développe à la température ordinaire de la chambre.

Vitesse de développement lente.

Liquéfie lentement.

Forme dans le bouillon un sédiment floconneux.

Réduit les nitrates en nitrites.

Ressemble beaucoup au *B. pestifer* de l'air, mais en est cependant différent.

Bacillus vermiculosus ZIMMERMANN

Dans l'eau de Döbeln.

Grands bâtonnets à extrémités arrondies, à deux ou trois articles, ou formant de longs fils vermiformes, sur lesquels on distingue à peine la division en bâtonnets. Le diamètre des bâtonnets est d'environ 0,85 μ, les plus petits (un article) ont 1,5 μ de long. Les bâtonnets ont une enveloppe muqueuse. Les bâtonnets montrent un mouvement en partie circulaire, en partie vibratoire; les plus longs sont immobiles.

Sur plaques. — Les colonies profondes forment de petites boules blanches; les colonies superficielles, des dépôts gris, en forme de gouttes aplaties. Sous un faible grossissement, les premières sont presque circulaires, se détachant nettement de la gélatine, grises, granulées; les dernières ont un contour net, irrégulier avec des découpures ondulées ou sinueuses, elles sont traversées à l'intérieur par des lignes claires dans diverses directions, formant un réseau de mailles. Au début ce réseau se montre sur toute la surface, plus tard seulement au bord.

Se développe le mieux de 25 à 30° centigrades.

Vitesse de développement assez rapide à température élevée, lente à la température de la chambre.

Liquéfie.

Bacillus Zopfii KURTH

Rencontré plusieurs fois dans l'eau et le sol par Macé.

Bâtonnets de 2 μ à 5 μ de long sur 0,7 μ à 1 μ de large,

croissant souvent en longs filaments droits ou ondulés, quelquefois pelotonnés et formant alors, de distance en distance, des sortes de nœuds (fig. 60) ; les filaments se segmentent en nouveaux bâtonnets qui, eux-mêmes, dans les vieilles cultures, peuvent devenir sphériques et être considérés alors ou comme des cocci (Kurth) ou comme des spores (Macé) dont ils ont plutôt les caractères classiques. Très mobiles.

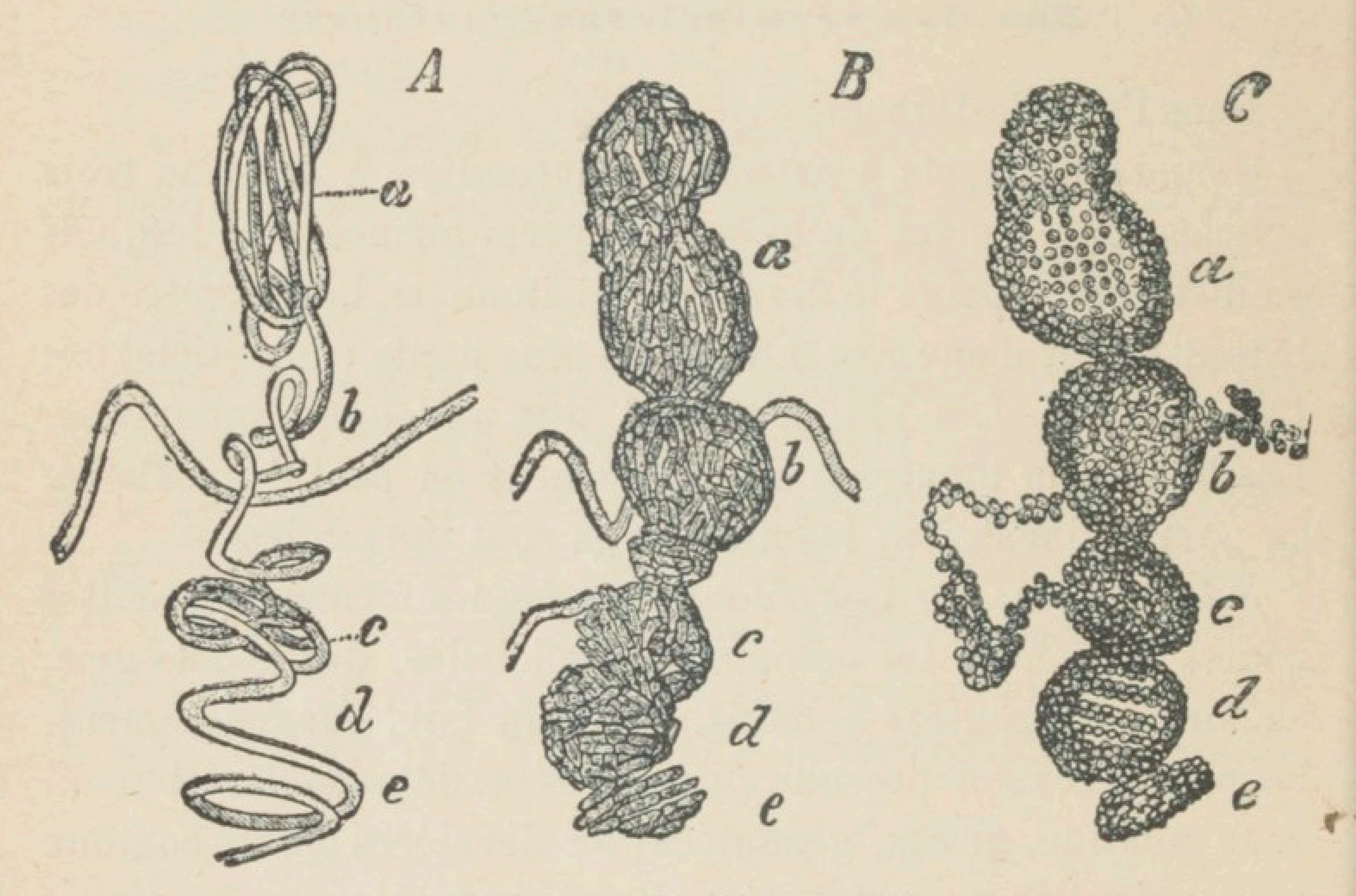


Fig. 60. — *Bacillus Zopfii.*

A, filaments ; — B, amas de bâtonnets ; — C, amas de coccus (spores). (Zopf d'après Kurth).

Sur plaques : en deux ou trois jours, petites masses blanchâtres, floconneuses, ressemblant à un mycélium. Ne liquéfie pas, ou liquéfie très tardivement. En raison de ce fait que la liquéfaction apparaît toujours au bout de plusieurs semaines, dans les cultures sur gélatine en piqûre, j'ai placé ce bacille parmi les espèces liquéfiantes.

Dans le bouillon : trouble persistant, voile mince, fragile, se fragmentant et tombant au fond. Cette espèce a été identifiée avec les *Proteus*, par Schedtler, mais en est dis-

tincte d'après Macé ; elle est, au contraire, très voisine du *Bacille d* de Vignal. A été trouvé dans l'intestin et l'appendice vermiculaire de poulets sains ou malades (Kurth) et dans le sang du foie de canards malades (Macé).

Proteus sulfureus LINDERBORN, HOLSCHEWNIKOFF

Dans l'eau.

Analogue ou peut-être identique au *Proteus vulgaris* d'Hauser; bâtonnets longs et courts, ayant en moyenne 0,8 μ de large et 1,6 μ de long, souvent disposés en longues chaînes ou filaments.

Mobile.

Sur plaques. — D'abord colonies blanches, isolées, d'ou, avec le ramollissement de la gélatine, partent des fils s'étendant sur la partie intacte de celle-ci où ils forment des « îlots flottants » ; plus tard il y a liquéfaction avec formation de larges cônes circulaires, blanc gris.

Se développe à la température de la chambre.

Rapide développement.

Liquéfie avec une rapidité extraordinaire.

Proteus Zenkeri HAUSER
(Die Faulnissbakterien, 1885).

Bacilles longs de 1,6 μ, large de 0,4 μ, avec les extrémités arrondies.

Mouvements très vifs.

Sur plaques. — Au bout de quarante-huit heures, colonies constituées par une grosse couche blanche qui se détache très facilement de la substance même de la gélatine.

Liquéfaction partielle et très tardive.

Développement rapide dans le bouillon qui prend une odeur forte.

Croît à la température ambiante, mais très lentement.

Produit la putréfaction des matières organiques; ressemble sur gélatine au *Proteus mirabilis*.

NE LIQUEFIANT PAS LA GÉLATINE, PRODUISANT UNE MATIÈRE COLORANTE

Bacillo acquatile giallo-oro ADAMETZ ET WICHMANN

Décrit par Lustig.

Bâtonnets deux à trois fois plus longs que larges.

Mouvements lents.

Sur plaques. — Les colonies superficielles apparaissent comme des points jaunes, éclatants, à développement lent.

Les profondes, au début, sont ovales ou rondes, jaunes, granuleuses, les superficielles sont rondes avec des bords aigus et de couleur jaune.

Ne liquéfie pas la gélatine.

Croît à la température ambiante.

Trouvé par Adametz-Wichmann *(loc. cit.)*.

Bacillo acquatile rosso-orange

Décrit par Lustig.

Bâtonnets longs et très minces.

Immobiles.

Développement lent.

Sur plaques. — Les colonies sont rouge orange. Au début ce sont de petits points de couleur brune, ronds ou ovales. Les colonies profondes paraissent incolores.

Ne liquéfie pas.

Croît à la température ambiante.

Décrit dans Adametz-Wichmann *(loc. cit.)*.

N'altère pas les liqueurs nutritives.

Bacillus aurantiacus G. ET P. FRANKLAND

Dans l'eau des puits de la Compagnie de Kent.

Bâtonnets courts, gros, de dimensions très variables, dis-

posés aussi par couples, se développant souvent en longs filaments.

Mobilité faible.

Sur plaques. — Sous forme de proéminences, en tête de clou, de teinte jaune orangé clair. Sous un faible grossissement, les colonies superficielles montrent une teinte foncée, sans structure précise; les colonies profondes se montrent sous forme de disques granuleux, à bord lisse.

Se développe à la température de la chambre.

Développement lent.

Ne liquéfie pas.

Forme dans le bouillon un sédiment de couleur jaune orange.

Réduit légèrement les nitrates.

Bacillus aureus Adametz et Wichmann, Unna et Tommasoli

Dans l'eau et sur la peau humaine dans l'eczéma seborrhéique.

Bacilles rectilignes ou légèrement arqués, graciles, de 1,5 à 4 μ de long et 0,5 μ de large. La plupart sont disposés en groupes parallèlement entre eux, beaucoup par deux ou en longs filaments.

Mobilité faible.

Sur plaques. — Les colonies se développent lentement sous des formes diverses et irrégulières. Au bout de huit jours la plupart ne présentent encore que de petits points, d'abord blanchâtres, puis jaune clair et enfin jaune de chrome. Sous un faible grossissement : formes diverses, dimensions variables (1 à 4 millimètres), rondes ou en forme de pierre à aiguiser. Toutes sont opaques, nettement limitées et ont une couleur d'or caractéristique.

Plus tard un grand nombre deviennent bosselées ou en forme de boudin et prennent une teinte jaune mirabelle.

Se développe à la température de la chambre.

Développement assez lent.

Ne liquéfie pas.

Bacillus berolinensis indicus Claessen

Eau non filtrée de la Sprée.

Bâtonnets graciles, élégants, à extrémités arrondies, ayant à peu près les dimensions du *Bac. typhosus*, généralement isolés ou réunis par deux ou trois. Le bâtonnet proprement dit est entouré d'une mince enveloppe de protoplasma que l'on reconnait à l'aide de mordants et de coloration consécutive.

Vif mouvement propre.

Sur plaques. — Seulement au troisième jour colonies blanc gris, circulaires, de la grosseur d'une tête d'épingle; le quatrième jour commence la formation de matière colorante ; les colonies sont imbibées d'une couleur bleu indigo, les colonies profondes surtout au bord, les colonies superficielles au contraire, principalement au centre ; le bord incolore des dernières est irrégulièrement échancré et donne ainsi aux colonies superficielles, en même temps que l'état nacré, l'aspect de celles du *Bac. typhosus*.

Se développe à la température de la chambre d'une manière plus intense qu'à la température de l'étuve.

Développement assez rapide.

Ne liquéfie pas.

Bacille bleu-indigo

Décrit par Lustig.

Bacilles aux extrémités arrondies, de mêmes dimensions que le *B. typhique*.

Dans les gouttes pendantes (cultures en cellules) on voit

davantage les individus unis ensemble; ils paraissent être renfermés dans une capsule protoplasmique.

Mobilité propre.

Sur plaques. — Au troisième jour les colonies sont blanc grisâtre, rondes, et ressemblent à celles du bacille typhique. Au quatrième jour, production d'une substance colorante tant dans les colonies superficielles que dans les profondes.

Ne liquéfie pas la gélatine.

Dans le bouillon. — Trouble au bout de vingt-quatre heures; au bout de quarante-huit heures, flocons dans le fond du récipient. La substance colorante ne se développe pas.

Le développement se ralentit à 37°.

Bien étudié par *Claesten (Centr. f. Bakter*, 1890, n° 1).

Exclusivement aérobie; pas de spores connues.

Se développe à l'obscurité sans autres particularités biologiques.

Bacillus brunneus ADAMETZ ET WICHMANN

Eau.

Petits bâtonnets fins.

Immobile ou à mouvements très lents (Lustig).

Sur plaques. — Goutelettes blanc sale, constituées par un mucus épais, mais peu visqueux, dépassant la surface de la gélatine. Sous un faible grossissement, colonies blanchâtres, fortement réfringentes, à bord circulaire. Plus tard, au bout de dix à quatorze jours, les goutelettes muqueuses deviennent grises et sécrètent à la partie inférieure une matière colorante, d'un brun pur.

Se développe à la température de la chambre.

Développement très lent.

Ne liquéfie pas.

C'est à ce bacille que Lustig donne le nom de *Bacillo acquatile bruno-pigmentato.*

Bacillus erythrosporus Eidam

Dans le bouillon, l'eau albumineuse en putréfaction et l'eau potable.

Bacilles graciles à extrémités arrondies tronquées, formant souvent de courts filaments.

Très mobile.

Sur plaques. — Colonies blanchâtres, s'étendant ensuite à la surface sous forme de dépôt sillonné et plissé, avec fluorescence jaunâtre vert, autour de chaque colonie. Sous un faible grossissement : circulaires, avec bord irrégulier, mais net ; le centre brunâtre, opaque, est entouré d'une zone marginale claire, d'un jaune verdâtre. La surface montre une disposition radiaire, faiblement indiquée.

Ne se développe pas à température élevée.

Développement assez rapide.

Ne liquéfie pas.

Doit son nom à ce que chaque bacille porte une ou plusieurs spores ovales, de couleur rouge sale.

A été trouvé dans l'eau et décrit à nouveau par M. Bolton (*Zeitschrift. f. Hyg.*, I Bd., 1886).

Ne produit pas de fermentation dans les liquides sucrés (Adametz).

Bacillus flavocoriaceus (jaune de soufre)
Adametz et Wichmann

(*Mittheilung. d. Œst. Versuchsstation*, etc., II Heft., 1888).

Eau.

Très petits bâtonnets formant des zooglées.

Immobile.

Sur plaques. — Les petites colonies arrondies, jaune de soufre, montrent sous un faible grossissement un centre jaune brun, entouré d'une zone jaune clair. Les jeunes colonies

arrondies, ainsi que les vieilles de forme irrégulière sont granuleuses à gros grains.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe lentement.

Ne liquéfie pas.

Batterio fluorescente bleu-verde

Bactérie à fluorescence vert bleu Adametz

Décrit par Lustig.

Bacilles courts, larges de 0,6 à 0,8μ, longs de 1,2 à 1,4μ, souvent accouplés par deux.

Sur plaques. — Les colonies profondes sont petites, jaune pâle, les superficielles ont une forme irrégulière, de couleur blanc sale et atteignent vers le cinquième jour leur maximum de développement. La gélatine tout autour d'elles prend une coloration bleu verte.

Ne liquéfie pas la gélatine.

Croît à la température ambiante et à 35° centigrades.

Adametz (*Mittheilung. d. Œster. Versuch.*, II Heft, 1888) l'a bien étudié.

Inodore; se développe dans les liquides nutritifs renfermant du sucre de raisin, qui se troublent à 30°.

Cette espèce paraît identique au *Bacillus iris* décrit par Frick.

Bacillus fluorescens non liquefaciens Eisenberg

B. aquatilis fluorescens, Lustig.

Trouvé dans l'eau par Eisenberg.

Bâtonnets courts, fins, à extrémités arrondies.

Non mobile.

Sur plaques. — Colonies superficielles en forme de feuilles de fougères avec reflet chatoyant nacré sur un large pourtour.

Ne se développe pas à température élevée.
Développement rapide.
Ne liquéfie pas.

Bacillus fluorescens putidus Flugge

Eau.
Courts bâtonnets, à extrémités arrondies.
Mobilité très vive.

Sur plaques. — Aussi bien au fond qu'à la surface, petites colonies. Sous un faible grossissement : disques ronds, finement granuleux, avec contour nettement sinueux; centre foncé, autour duquel la masse fongueuse est jaune, zone marginale d'un gris clair. Les vieilles colonies plus étendues se montrent dentelées et ont un reflet verdâtre. La gélatine environnante présente une fluorescence verte. Odeur intense, se rapprochant de celle de la triméthylamine.

Se développe à la température de la chambre.
Développement rapide.
Ne liquéfie pas.

Bacillus lactis viscosus L. Adametz

Trouvé dans l'eau des rivières avoisinant Vienne et recevant les eaux de quelques fabriques, et notamment dans le Petersbach (100 à 200 par centimètre cube) *(Landwirthschaftl. Jahrbücher*, 1890, p. 185.)

Bâtonnets courts pouvant être facilement confondus avec des cocci un peu allongés, entourés d'une capsule apparente surtout dans les cultures faites dans le lait, d'une largeur ayant un 1/3 de la longueur ou l'égalant (dans le lait) de 1,5 μ de long sur 1,25 μ de large, ou de 1,05 μ de long sur 0,8 μ de large.

Parfois en filaments de 3 à 6 individus (lait).

Formes involutives fréquentes ressemblant à des levures bourgeonnantes dans les vieilles cultures sur le lait.

Mobilité faible dans les jeunes cultures.

Sur plaques de gélatine glycérinée. — Au bout de trois à quatre jours petites colonies punctiformes dont les superficielles s'étendent rapidement et atteignent 1 à 1,2 centimètre de diamètre ; elles sont irrégulièrement arrondies à bords dentelés, à centre blanchâtre et très épais, à surface lisse, à bords minces et presque transparents, produisent par l'éclairage des effets de couleurs variés comme ceux de l'opale.

Les colonies profondes se développent très faiblement.

Ne liquéfie pas.

Développement rapide à 28°, très médiocre à 10° — 15°.

Rend le lait visqueux et absolument filant au bout de quatre semaines ; ce phénomène paraît être dû non à une fermentation visqueuse, mais au gonflement de la capsule des bacilles.

M. Adametz a retrouvé ce bacille dans un lait filant provenant de la laiterie de Sornthal.

Non pathogène au moins pour les souris blanches.

Bacillus latericeus (rouge-brique) Adametz et Wichmann

Trouvé dans l'eau par Adametz et Wichmann.

Bâtonnets trois à cinq fois plus longs que larges, formant des fils courts, souvent recourbés.

Immobiles, ou se mouvant lentement (Lustig).

Sur plaques. — Petites colonies punctiformes, d'un rouge brique. Sous un faible grossissement : rondes, finement granuleuses, d'un rouge brun, avec zone marginale claire autour d'un centre foncé.

Se développe à la température de la chambre.

Se développe très lentement.

Ne liquéfie pas.

Ne produit pas de fermentation,

Bacterium luteum List

Eau.

Cellules elliptiques de 1,1 à 1,3μ de long.

Immobile.

Sur plaques. — Amas muqueux, irréguliers, s'étalant peu à peu, de teinte jaune orangé. Sous un faible grossissement : colonies constituées par un grand nombre de masses zoogléiques à gros grains, claviformes, dont chacune est remarquablement formée de plusieurs fragments.

Se développe à la température de la chambre, mieux à 30° centigrades.

Rapide développement.

Non liquéfiant.

Ne produit pas de fermentation dans les liquides sucrés (Adametz), mais provoque la coagulation du lait.

Bacillo rosso-ruggine (bacille rouge-rouille)

Décrit par Lustig.

Bacilles de 2,5μ de long, sur 0,5μ de large, se disposent en filaments.

Mouvements propres très vifs.

Sur plaques. — On aperçoit des écailles du diamètre de 3 à 4 millimètres, de couleur rouge rouille.

Au début, la colonie apparaît formée d'anneaux concentriques qui sont réunis superficiellement par un système de lignes rayonnées. Les anneaux périphériques sont transparents ; le centre de la colonie est obscur et opaque.

Ne liquéfie pas la gélatine.

Croît à la température ambiante.

Décrit par List et par Adametz.

Le pigment est insoluble dans l'eau, l'alcool et l'éther.

Bacillus syncyanus (bacille du lait bleu) Ehrenberg
Vibrio cyanogenus (Fuchs).

Trouvé fréquemment dans les eaux d'égout de Lawrence.

Bacilles à extrémités arrondies de 1,3μ à 4μ de long sur 0,5μ à 0,8μ de large, isolés, en longues chaînettes ou en petites zooglées muqueuses dont chaque individu est entouré d'une sorte de capsule de gelée.

Mouvements lents.

Sur plaques. — Au bout de quarante-huit heures petites colonies blanchâtres, arrondies, granuleuses, s'étalant à la surface en petites gouttelettes muqueuses ; la gélatine prend une teinte gris bleu.

Ne liquéfie pas.

Température optimum pour la formation de la matière colorante = 15° à 18° centigrades ; développement retardé à 25°, nul à 37°.

Ne coagule pas et n'acidifie pas le lait ; donne rapidement au lait ordinaire une couleur d'un beau bleu de ciel qui dans le lait stérilisé est remplacée par une teinte grisâtre, ce qui est dû au défaut d'acidité.

M. Edwin O. Jordan qui a décrit cette espèce dans : *Experimental investigations by the State Board of Health of Massachusetts*, etc., n'a, pas plus que Heim du reste, trouvé les formes en massue décrites par Hueppe et il pense que les spores constatées par ce dernier auteur ne sont autre chose que des vacuoles.

Bacillus viridis pallescens Frick

Trouvé par Tils dans les conduites de Fribourg.

Bâtonnets plus grands et plus sinueux que ceux du *B. fluorescens putidus*, à extrémités arrondies.

Sur plaques. — Dans la profondeur, petites colonies

foncées ; à la surface : colonies ressemblant beaucoup à celles du *B. fluorescens putidus*, mais à croissance et extension plus rapides. La gélatine environnante est d'abord verte, puis cette teinte pâlit beaucoup et rapidement, et passe au vert bleu.

Ne liquéfie pas la gélatine.

NE LIQUÉFIANT PAS LA GÉLATINE, NE PRODUISANT PAS UNE MATIÈRE COLORANTE

Bacillus acidi lactici Hueppe

Décrit par Lustig.

Bacilles courts et gros, deux fois plus longs que larges, réunis ordinairement par deux ou par trois.

Immobiles.

Se développe lentement sans liquéfier le terrain nutritif.

Sur plaques. — Colonies blanches, rondes, avec bords aigus. Au début, les colonies superficielles ont à leur centre une couleur jaune pâle et des contours finement découpés.

Température optimum = 35° et 42° centigrades.

A été trouvé par Hueppe dans le lait acide et par Adametz dans l'eau.

Produit dans les solutions de sucre de canne, de lait ou de raisin, la fermentation de l'acide lactique avec développement d'acide carbonique.

Dans le lait, à la température de 30°, produit en quinze ou vingt-quatre jours une coagulation gélatineuse.

Bacillus albus (bacille blanc) Eisenberg

Bacillo bianco de Lustig.

Eau.

Courts bacilles à extrémités tronquées, souvent réunis en plusieurs articles.

Mobile.

Sur plaques. — Colonies rondes, blanches, en forme de tête d'épingle.

Ne se développe pas à température élevée.

Développement lent.

Non liquéfiant.

Bacillus aquatilis sulcatus I Weichselbaum

Dans l'eau des conduites de Hochqueller, de Vienne, à l'époque de l'introduction de l'eau de la Schwarza.

Bâtonnets ayant les dimensions des bacilles typhiques, très analogues aussi à ces derniers dans leur développement.

Vif mouvement propre.

Sur plaques. — Au bout de deux jours, les colonies superficielles ont la forme de disques, très minces et bleuâtres à la périphérie, un peu plus épais et blanchâtres au centre. Le bord est nettement retroussé. Sous un faible grossissement, à la surface, système de lignes ou sillons se croisant sous différents angles, analogue à celui des colonies typhiques, seulement un peu plus délicat; la couleur est blanche, jaunâtre au centre. Plus tard apparaissent au centre de très nombreuses lignes serrées, à nombreux entrecroisements, tandis que la périphérie est encore blanche et porte le système de lignes précédemment indiqué. Les colonies profondes sont rondes, jaunâtres.

Se développe à la température de la chambre beaucoup plus rapidement que les bacilles typhiques, très peu à la température de l'étuve. Vers 5 à 7° centigrades, il y a encore développement visible, ce qui n'est pas le cas pour les bacilles typhiques.

Développement assez rapide.

Ne liquéfie pas.

Bacillus aquatilis sulcatus 2 WEICHSELBAUM

Dans l'eau des hautes sources à Vienne, à l'époque de l'introduction de l'eau de la Schwarza.

Courts bâtonnets à extrémités arrondies, à peu près de la dimension des bacilles typhiques courts, très analogues aussi à ces derniers comme développement.

Mobile.

Sur plaques. — Au bout de deux jours, les colonies superficielles sont en forme de disque, analogues à celles des bacilles typhiques et du *Bac. aquat. sul. 1*, mais un peu plus épaisses et non retroussées à l'œil nu. Sous un faible grossissement, on aperçoit un retroussement du bord, mais peu apparent ; le système de lignes n'est pas non plus aussi net que celui du *Bac. aquat. sul. 1*. Le centre est jaunâtre, la périphérie blanche. Au bout de trois jours, les colonies sont devenues plus épaisses, le retroussement et le système de lignes ont disparu complètement sous le microscope ; les colonies, à l'exception de la zone marginale extrême, sont complètement jaunâtres.

Conditions de température comme pour le *Bac. aquat. sul. 1*.

Développement assez rapide.

Non liquéfiant.

Bacillus aquatilis sulcatus 3 WEICHSELBAUM

Dans l'eau des hautes sources de Vienne, à l'époque de l'introduction de l'eau de la Schwarza.

Très courts bâtonnets, fréquemment analogues à des cocci.

Mouvement propre très vif.

Sur plaques. — Au bout de deux à trois jours, les colonies superficielles ont une forme très nette de disque, épaisses

et blanches au centre, très minces et bleuâtres à la périphérie, à bords retroussés. Sous le microscope, les colonies montrent un système de lignes très net. Plus tard, les colonies deviennent plus grandes, plus épaisses et perdent leur couleur bleuâtre ; sous le microscope, le système de lignes a disparu ; à sa place il y a un entrelacement beaucoup plus serré de lignes et sillons courts, la coloration jaunâtre du centre s'est étendue davantage vers le bord. Les colonies profondes ne sont pas caractéristiques.

Conditions de température, comme pour le *Bac. aquat. sul. 1*.

Développement rapide.

Non liquéfiant.

Bacillus aquatilis sulcatus 4 Weichselbaum

Dans l'eau des hautes sources de Vienne, à l'époque de l'introduction de l'eau de la Schwarza.

Bâtonnets longs et courts, souvent en fils.

Les formes courtes sont immobiles, les formes longues sont mobiles.

Sur plaques. — Colonies visibles tout au plus au bout de quatre jours ; les colonies superficielles sont d'abord très minces et bleuâtres, avec bords retroussés et centre blanchâtre un peu plus épais. Sous un faible grossiss ement, système de lignes bien développé ; les plus petites colonies sont blanches, les plus grandes jaunâtres au centre. Plus tard, les colonies s'élargissent et deviennent un peu plus épaisses, jaunâtres dans toute leur étendue ; à la place du système de lignes, il se développe pour quelque temps un système de lignes et sillons plus courts, beaucoup plus serrés. Les colonies profondes sont rondes et jaunâtres.

Se développe extrêmement lentement à la température de la chambre, encore plus mal à la température de l'étuve.

Vitesse de développement très lente.

Non liquéfiant.

Bacillus aquatilis sulcatus 5 Weichselbaum

Dans l'eau des hautes sources de Vienne, à l'époque de l'introduction de la Schwarza.

Bâtonnets courts ou longs, un peu plus gros que les bacilles typhiques, à extrémités arrondies ou pointues.

Mobile.

Sur plaques. — Au bout de deux à trois jours, colonies visibles, analogues à celles du *Bac. aquat. sul. 1*.

Ne se développe qu'à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Non liquéfiant.

Bacillus constrictus Zimmermann

Dans l'eau des conduites de Chemnitz et de Döbeln.

Bâtonnets arrondis aux extrémités, formés de deux à six articles et davantage. qui sont un peu étranglés entre les divers articles ; après la coloration, il y a parfois entre les articles une bande non colorée, ce qui leur donne un aspect de semoule. La longueur des plus courts est d'environ 1,5μ, les longs mesurent 6,5μ et au delà. La grosseur est de 0,75μ.

Mouvement rotatoire et vibratoire.

Sur plaques. — Au bout de quatre à cinq jours, petites gouttelettes brillantes, couleur jaune de Naples. Sous un faible grossissement, les colonies profondes présentent des disques gris jaunâtres, granuleux, nettement séparés de la gélatine, mais avec un bord dentelé, rongé.

Se développe le mieux à la température de la chambre ; à 30° centigrades, pas de développement.

Vitesse de développement assez lente.

Non liquéfiant.

Bacille en chapelet Maschek

Trouvé par Tils dans l'eau des conduites de Fribourg.

Bâtonnets courts, souvent étranglés, à extrémités arrondies, isolés ou par deux.

Sur plaques. — Colonies en disques arrondis foncés et granuleux à un faible grossissement; forment plus tard de petites têtes d'un blanc de porcelaine qui s'étendent à la surface.

Ne liquéfie pas la gélatine.

Bacillo D Foutin

Décrit par Lustig.

Bacille gros de 1 μ, long de 5 à 20 μ ; les extrémités sont un peu amincies.

Mouvements plutôt lents.

Sur gélatine. — Culture en clou, ressemble à celle du coccus de l'érysipèle.

Trouvé par Foutin (*Centr. f. Bakt. u. Par.*, 1890, n° 12).

Bacillus fluorescens aureus Zimmermann

Dans l'eau des conduites de Chemnitz.

Courts bâtonnets constitués par deux articles, rarement un plus grand nombre, arrondis aux extrémités et munis de longs cils, réunis par groupes plus ou moins considérables.

Leur épaisseur est d'environ 0,74 μ, leur longueur à peu près le double en général ou un peu plus.

Très mobiles, ont des cils colorables d'après la méthode de Trenkman.

Sur plaques. — Aussi longtemps que la culture est encore enveloppée de gélatine, elle se montre sous la forme de petites boules blanc jaunâtre. A la surface, il se forme un dépôt gris jaunâtre, à éclat humide, non nettement limité. Sous un faible grossissement, les colonies profondes montrent des disques circulaires, granuleux, jaune pâle, à contour net; les colonies superficielles ont un contour irrégulier, sont plus compactes vers le centre et très délicatement striées en forme d'alvéoles.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Non liquéfiant.

Bacillus fluorescens longus Zimmermann

Dans l'eau des conduites de Chemnitz.

Bâtonnets courts ou longs, rectilignes ou parfois un peu courbes, rangés côte à côte, entremêlés de longs fils demi-circulaires ou ondulés. Le diamètre du bâtonnet est de 0,83 μ, la longueur des plus courts 1,45 à 1,65 μ; les plus longs mesurent 14 μ et au delà. Se colore par la méthode de Gram, contrairement au *Bacillus fluorescens tenuis*.

Les courts bâtonnets ont une vive mobilité, les longs fils sont immobiles.

Sur plaques. — La jeune colonie forme à l'intérieur de la gélatine une petite boule blanche, tirant un peu sur le verdâtre; à la surface, il se forme un dépôt d'abord très mince et délicat, presque circulaire, à reflet nacré, qui s'étend rapidement et se présente alors sous la forme d'une grande (atteignant souvent déjà au bout de trois jours jusqu'à 9 millimètres de diamètre) tache jaune verdâtre qui, au bord ne se détache que très peu ou presque pas de son substratum et semble traversée par des fibres blanc jaunâtre. Sous un faible grossissement, la colonie profonde est jaunâtre, nettement limitée, avec des stries sinueuses à l'in-

térieur ; les colonies superficielles présentent des stries analogues, mais qui sont plus larges et rappellent les circonvolutions intestinales d'un petit animal.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement très rapide.

Non liquéfiant.

Bacillus fluorescens tenuis Zimmermann

Dans l'eau des conduits de Chemnitz.

Bâtonnets gros, courts, arrondis aux deux extrémités, un peu vers les deux bouts, parfois aussi vers un seul, disposés en amas, souvent côte à côte, d'environ 0,8 μ d'épaisseur et 1,0 à 1,85 μ de long, souvent formés de quatre à six articles dans les vieilles cultures. Se décolore avec la méthode de Gram, ce qui le distingue du *Bacillus fluorescens longus*.

Mouvement oscillatoire et rotatoire.

Sur plaques. — Dépôts gris, minces, brillants, irrégulièrement arrondis avec des dentelures radiaires au bord ; la gélatine est colorée en vert bien au delà de leur limite.

Se développe à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Non liquéfiant.

Bacillus fuscus Zimmermann

Dans l'eau du Zwönitz, non loin des machines hydrauliques de Chemnitz.

Bâtonnets moyens ou longs, rectilignes ou notablement arqués, à extrémités arrondies et contours irréguliers, parfois légèrement dentelés, d'environ 0,63 μ de diamètre.

Immobile.

Sur plaques. — Les colonies encore enveloppées de gélatine forment de petits points brun jaune ; plus tard elles s'élèvent en forme de bouton au-dessus de la surface et pren-

nent fréquemment une forme irrégulière, bosselée. Dans ce cas elles apparaissent sous la loupe à l'état d'agrégat de petits granules et globules. Sous un faible grossissement, les colonies enveloppées ont un contour net, plus ou moins circulaire, parfois aussi assez irrégulier, souvent comme rongées au bord ; elles se présentent sous la forme de disques granuleux, jaune gris à jaune brunâtre, mais quand elles sont sorties de la gélatine, on reconnaît au centre une masse jaune brunâtre, entourée d'un rebord brillant, fortement réfringent.

Se développe le mieux à 30° centigrades.

Développement lent.

Non liquéfiant.

Bacillus multipediculosus Flugge

Air et eau.

Longs bâtonnets graciles.

Immobile.

Sur plaques. — Sous un faible grossissement, disques foncés, ronds, ovales, à contour net ; de la périphérie partent en quelques places de larges appendices articulés, radiaires et concentriques, formés par des Zooglées arrondies. Dans les colonies superficielles ovales, blanches, ces appendices sont visibles à l'œil nu au bout de deux à trois jours. La colonie ressemble à un insecte muni d'un grand nombre de pattes et de tentacules.

Se développe à la température de la chambre.

Développement modéré.

Non liquéfiant.

Se trouve fréquemment dans l'eau de l'aqueduc de Cagliari (Lustig).

Bacillus muscoïdes Liborius

Trouvé par Tils dans les conduites de Fribourg.

Bacilles de 1 μ environ de largeur, a une tendance à former des filaments.

Mouvements lents.

Sur plaques. — Forme à l'intérieur de la gélatine des colonies qui à un faible grossissement se montrent constituées par des ramifications délicates ressemblant à celles des mousses.

Ne liquéfie pas.

Anaérobie vrai, se cultive dans une atmosphère d'hydrogène.

Bacillus phosphorescens gelidus Forster

Poissons de mer phosphorescents.

Dans les très jeunes cultures, petits bâtonnets à extrémités légèrement arrondies, environ trois fois plus longs que larges. Dans les cultures âgées de plus de vingt-quatre heures, la plus grande partie des bâtonnets sont épaissis et se rapprochent de la forme ovoïde (formes d'involution).

Développement abondant sur un terrain nutritif contenant 2 à 7 pour 100 de sel de cuisine.

Terrain nutritif le plus favorable : Bouillon de poisson de mer préparé avec de l'eau de mer ou une solution de sel marin à 3 ou 4 pour 100.

Sur plaques. — A la température de la chambre au bout d'un à deux jours, petits points ronds. Sous un faible grossissement, colonies presque circulaires de couleur blanc gris avec reflet faiblement verdâtre ; plus tard granulées, faiblement jaunâtres avec un bord légèrement sinueux. Se développe le mieux à la température de la chambre ; portées quelques heures entre 35° et 37° centigrades, ces cultures

périssent tandis qu'elles se développent encore vigoureusement à 0°.

Vitesse de développement lente.

Non liquéfiant.

Bacillus rubefaciens ZIMMERMANN

Dans l'eau des conduites de Chemnitz.

Bâtonnets fins, arrondis aux deux extrémités, d'environ 0,32μ de grosseur, et 0,75 à 1,65μ de long, formés de deux ou un plus grand nombre d'articles, souvent disposés parallèlement.

Mobilité vive.

Sur plaques. — Les colonies qui se trouvent à l'intérieur de la gélatine ou qui viennent seulement d'arriver à la surface se montrent, à l'œil nu ou sous la loupe, globulaires ou en forme de lentille, blanches avec une légère teinte rougeâtre jaune; celles qui se trouvent à la surface depuis plus longtemps sont étalées, grises, avec une teinte rougeâtre. Sous un faible grossissement : les colonies enveloppées de gélatine sont circulaires, à contour net, jaunâtres ou brunâtres, granuleuses.

Réussit le mieux à la température de la chambre.

Développement assez rapide.

Non liquéfiant.

Bacillus rubescens NOV. SPEC.

Trouvé dans l'eau d'égout de Lawrence.

Longs bacilles à extrémités arrondies de 4μ de long sur 0,9μ de large, par couples ou en courts filaments, les bacilles isolés sont souvent courbes; pas de spores.

Mouvements lents.

Sur plaques. — Développement lent. Les jeunes colonies profondes sont ordinairement rondes, quelquefois ovales. Les

superficielles forment une goutte saillante d'un blanc de porcelaine. Les colonies s'accroissent lentement et prennent parfois une teinte légèrement brunâtre.

Ne liquéfie pas.

Dans le bouillon. – Trouble progressif et lourd précipité blanc. Après quelques semaines formation d'un voile épais tenace tandis que le bouillon s'éclaircit en dessous.

Ne coagule pas le lait qui reste franchement alcalin ; à la longue, légère teinte rose à la surface.

Ne réduit pas les nitrates.

Bacillus stolcnatus Adametz et Wichmann

Eau.

Bâtonnets deux fois et demi plus longs que larges.

Mobilité très vive.

Sur plaques. — Dans la profondeur, petites colonies à contour net, globulaires ou ovoïdes, finement granulées, dont la couleur varie du blanchâtre au blanc jaunâtre.

A la surface : Colonies allant du blanchâtre au brunâtre, s'élevant au-dessus de la surface en forme de boule, mesurant à la base, nettement limitée, un millimètre ; ne liquéfiant pas.

Dans le bouillon : couleur brune.

Se développe à la température de la chambre.

Vitesse de développement modérée.

Non liquéfiant.

Bacillus subflavus Zimmermann

Dans l'eau des conduites de Chemnitz.

Bâtonnets arrondis aux deux extrémités, formés de plusieurs articles, ayant un diamètre d'environ 0,77.

La longueur est d'environ 1,5 à 3,0 μ.

Mobilité lente.

Sur plaques. — Dans la profondeur de la gélatine, la colonie se présente sous la forme d'une petite boule blanc jaunâtre. Quand elle perce la surface de la gélatine, elle se bombe d'abord en une gouttelette hémisphérique, blanc jaunâtre, brillante, qui s'étale bientôt, prend des contours irréguliers, apparaît à la loupe striée, squameuse à la surface, et présente un éclat nacré. La coloration devient peu à peu jaune pâle sale. Sur la gélatine, les contours deviennent bientôt irréguliers, il se produit au bord de larges échancrures. La partie qui s'étend en couche mince à la surface est finement granuleuse et d'un aspect brunâtre clair ou incolore. La partie plus compacte déjà située en dessous de la gélatine conserve seule une coloration un peu plus intense.

Se développe le mieux à la température de la chambre.

Développement relativement lent.

Non liquéfiant.

Bacillus ubiquitus Nov. spec.

Trouvé dans les eaux d'égout de Lawrence.

Trouvé aussi, souvent, dans les eaux naturelles et occasionnellement dans l'air.

Paraît être très abondant partout.

Gros bacilles courts ressemblant à des microcoques de 1,1 μ à 2 μ de long sur 1 μ de large.

Très variable de forme, ayant dans le bouillon une légère tendance à se réunir en courts filaments ; cependant les formes simples prédominent.

Immobile.

Sur plaques. — Au début petites colonies arrondies, souvent ovales, jaunâtres.

Au bout de deux jours les colonies superficielles forment une saillie blanche, brillante, ressemblant à une goutte de lait, qui s'étend peu à peu, devient un peu irrégulière et prend une teinte brunâtre sombre.

A un faible grossissement bord lisse et surface finement granuleuse.

Ne liquéfie pas.

Dans le bouillon : Trouble rapide ; précipité floconneux abondant, mince pellicule dans les vieilles cultures, tombant facilement au fond.

Se développe aussi bien à 21° qu'à 37°.

Coagule rapidement le lait qui devient fortement acide et réduit énergiquement les nitrates.

Ressemble beaucoup au *B. candicans* de Frankland dont il diffère par sa culture sur agar (colonie gris blanchâtre à léger éclat métallique), sur pomme de terre (colonie blanche, brillante, très limitée à la ligne de strie), et par sa propriété de réduire les nitrates.

Bacillus ureæ Leube

Décrit par Lustig.

Gros bacilles à extrémités arrondies longs de 2 μ, larges de 1 μ.

Sur plaques. — Au bout de deux jours une petite tache transparente qui, au dixième jour, acquiert les dimensions de 1 centimètre.

Les colonies isolées ont l'aspect d'un *verre terni* (dépoli).

Ne liquéfie pas la gélatine.

Les cultures ont une odeur de saumure de hareng très caractéristique.

Vient d'être trouvé par Leube dans l'urine (*Wirchow's Arch. für pathologische Anatomie*, Bd. 100) et par Lustig fréquemment dans quelques eaux de la vallée d'Aoste.

Convertit l'urée en carbonate d'ammoniaque.

Bacterium Zurnianum List

Eau.

Courts bâtonnets faiblement en pointe aux extrémités, de 0,6 à 0,8 μ de grosseur et 0,2 à 1,5 μ de longueur.

A l'état coloré, ressemblent au milieu à des diplocoques par suite de la coloration plus intense des extrémités.

Immobile.

Sur plaques. — Colonies rondes, d'un blanc sale ou gris, formées par un mucus extrêmement visqueux; se développent peu à peu en amas muqueux en forme de grappes.

Se développe le mieux entre 25 et 30° centigrades, bien aussi à la température de la chambre.

Développement rapide.

Non liquéfiant.

II. Genre : SPIRILLUM Ehrenberg

Spirillum amyliferum Van Tieghem

Trouvé par van Tieghem dans l'eau en même temps que *Leuconostoc mesenteroïdes*.

Filaments rigides, enroulés à droite, de 6 μ de long sur 1 à 1,5 μ de large, à 2-4 tours de spire, se multipliant par bi-partition et par spores, et se colorant alors dans ce dernier cas en bleu par l'iode, sauf aux points où doivent se former les spores.

Agit à l'abri de l'air comme un ferment énergique.

Spirillum concentricum Kitasato

Trouvé par Kitasato dans du sang putréfié *(Centralb. f. Bakt.*, Bd. III, n° 3, 1888).

Décrit parmi les espèces de l'eau par Lustig *(loc. cit.)*.

Courtes spires, à extrémités pointues, à 2-3 tours (d'après Macé), à 5-20 tours (d'après Lustig), de 2,5 μ de largeur (Lustig), de 0,8 μ d'épaisseur (Macé); la hauteur d'un tour de spire est de 3,5 μ à 4 μ (Lustig et Macé).

Mouvements très vifs.

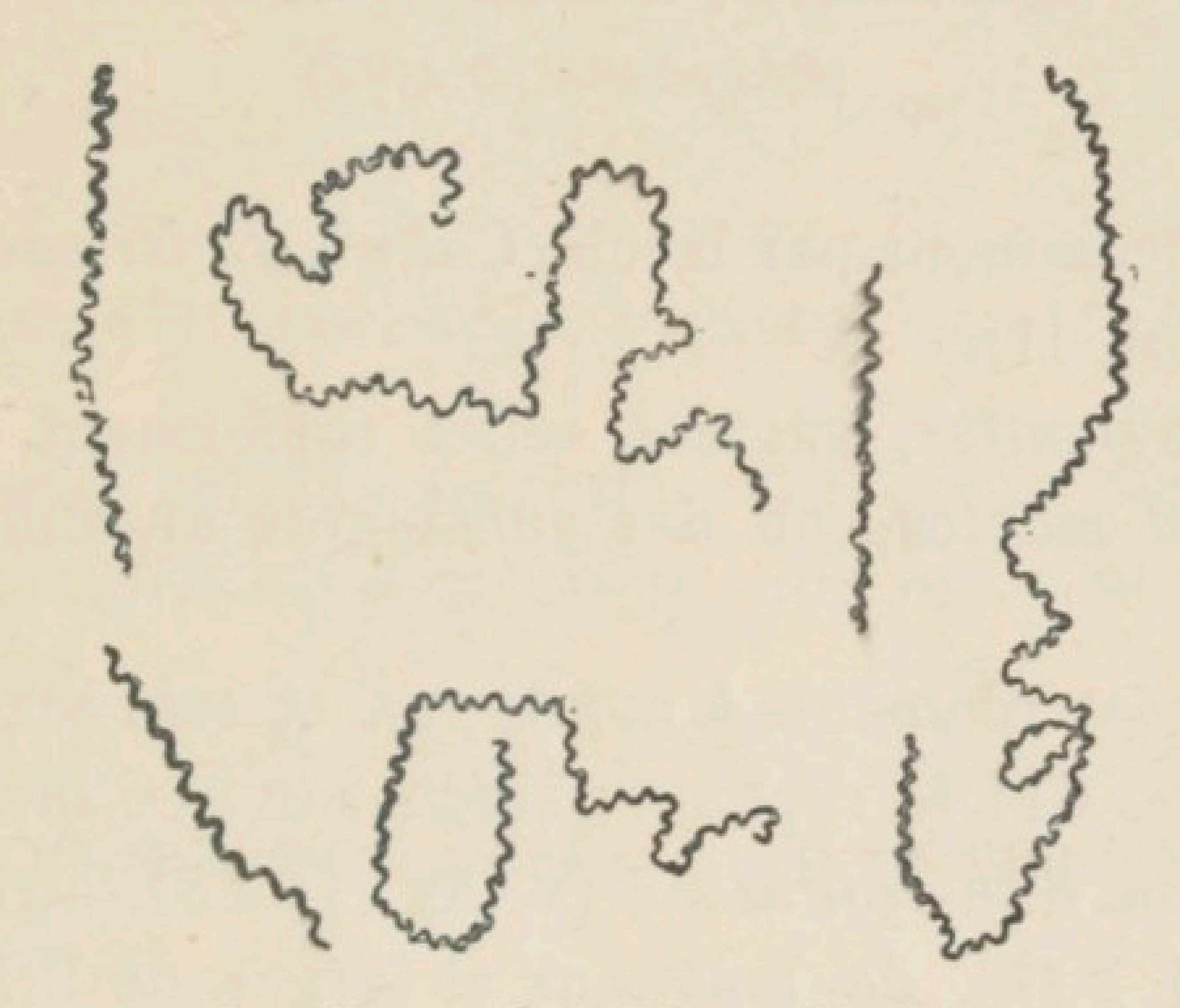


Fig. 61. — *Spirillum plicatile.*

Sur plaques. — Au bout de cinq jours, disques ronds de 4-5 millimètres de diamètre, formés d'anneaux concentriques de couleur gris blanc. Centre opaque avec des anneaux alternativement étroits et clairs ou larges et opaques ; de quelques-uns partent dans la gélatine ambiante des prolongements périphériques.

Ne liquéfie pas la gélatine.

Le bouillon se trouble lentement, puis s'éclaircit et il se dépose un épais sédiment muqueux.

Ne croît pas sur la pomme de terre.

Croît à la température ambiante et à 15-23° centigrades.

Non pathogène pour les animaux.

Spirillum leucomelaenum Perty

Trouvé dans les eaux croupissantes (V. Perty, *Zur Kenntniss kleinster Lebensformen*, Berne, 1852).

Courts articles, à contenu noir foncé, entourés d'une auréole claire, unis bout à bout pour former des spirilles à 2-3 tours.

Spirillum plicatile Ehrenberg

(Spirochæte plicatilis)

Décrit récemment par Koch *(Cohn's Beitrage z. Biolog. d. Pflanzen*, II).

Eaux stagnantes, surtout celles renfermant des plantes, vivantes ou mortes, ou des substances organiques décomposées.

Très minces filaments à nombreux et très serrés tours de spire (v. fig. 61) se repliant parfois sur eux-mêmes et prenant la forme dite *spiruline* (v. fig. 1, *13*), atteignant souvent 100 à 200 μ de longueur et larges de 0,5 μ, à extrémités arrondies.

Mouvements très rapides, tourbillonnants, ondulatoires et en pas de vis.

Spirillum rubrum Esmarch

Rencontré pour la première fois par Esmarch, sur un cadavre de souris morte de septicémie *(Centralb. f. Bakt.*, 1887, t. I, p. 225).

Trouvé dans l'eau par Adametz (?).

Éléments courts, de 0,8 μ d'épaisseur, de 1-3 tours de spire dans les milieux de cultures solides, pouvant atteindre jusqu'à cinquante tours dans les milieux nutritifs liquides.

Mouvement très vif des éléments courts ; les longs sont immobiles ou ont un mouvement ondulatoire lent.

Sur plaques. — Colonies petites, n'apparaissant qu'au bout de huit jours, grises, puis rouge bleu ou rouge de vin, à bord lisse et à surface granuleuse ; atteignent au bout de

quatorze jours seulement la grosseur d'une tête d'épingle.

Ne liquéfie pas la gélatine.

Bouillon troublé en vingt-quatre heures à 37° centigrades, renfermant de très grands spirilles.

Développement très lent se faisant le mieux à 37° centigrades.

Non pathogène.

Spirillum rufum PERTY *(loc. cit.)*.

Eau de puits ; forme à la surface des parois des récipients des taches muqueuses d'un rouge, qui varie du rouge-rose au rouge sang.

Filaments de 8-16 μ de long, légèrement rougeâtres, de un et demi à quatre tours de spire, non segmentés en articles.

Très mobiles.

Spirillum rugula MULLER
(Vibrio rugula)

Eaux croupies, liquides putréfiés.

Strictement anaérobie.

Bâtonnets de 6 à 16 μ de long sur 0,5 μ à 2,5 μ de large, courbés en arc ou formant un tour de spire applati, isolés ou en courtes chaînettes, parfois en zooglées floconneuses mucilagineuses ; sporifères (fig. 62).

Mouvements vifs, parfois rotatoires ; d'après Koch, il existerait un cil très évident à l'une des extrémités.

Sur plaques. — (A l'abri de l'air), petites taches sphériques, jaunâtres, entourées au troisième jour d'une zone de liquéfaction.

Bouillon rapidement troublé, avec dépôt blanc abondant.

Odeur fécaloïde intense des cultures.

D'après Prazmowski, ce serait un agent énergique de la décomposition de la cellulose.

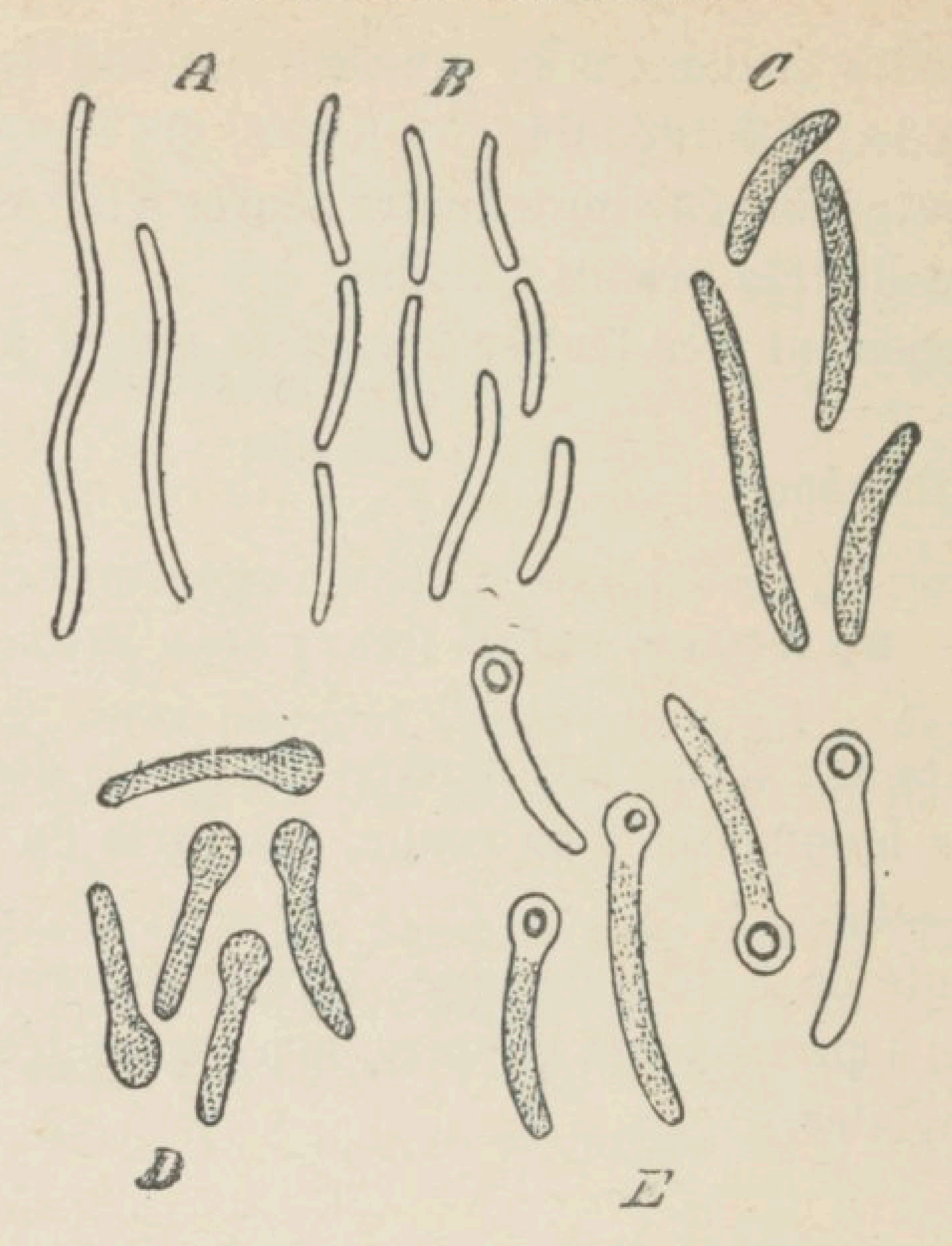


Fig. 62. — *Spirillum rugula*. — A, B, C, cellules végétatives; D, E, bâtonnets à spores (1000/1) (D'après Prazmowski).

Spirillum serpens Muller

(Vibrio serpens)

Eaux stagnantes et liquides putréfiés.

Minces filaments, souvent réunis en chaînes, de 11 à 28 μ de long sur 0,8 μ à 1 μ de large, à 3-4 tours de spire applatis ; quelquefois en flocons ou pellicules superficielles agglutinées alors par de la matière muqueuse.

Mouvements vifs.

Spirillum tenue Ehrenberg

Eaux stagnantes.

Filaments de 4 à 15 μ de longueur sur 0,4 μ de large, ayant de 1 à 5 tours de spire très écartés.

Mouvements vifs. Il existerait d'après Künstler un bouquet de cils à chaque extrémité.

Spirillum undula Muller
(Vibrio undula)

Fréquent dans les eaux stagnantes putréfiées.

Filaments de 8-16μ de long sur 1μ à 1,5μ de large, de 1-6 tours de spire.

Mouvements très rapides ; possède des flagelles.

Forme souvent de gros flocons muqueux.

Spirillum volutans Ehrenberg

Eaux stagnantes et particulièrement les eaux de marais (Lustig).

Filaments de 25-30μ de longueur sur 1,5μ à 2μ de large, à extrémités un peu amincies et arrondies, portant chacune un cil, à 2-4 tours de spire assez espacés. Dans l'intérieur du protoplasma nombreuses granulations sombres considérées comme étant du soufre par quelques auteurs ; certains parmi ceux-ci regardent même cette espèce comme faisant partie du cycle d'évolution des *Beggiatoa* dans le voisinage desquelles on la rencontre fréquemment.

Mouvements rapides ; les filaments, d'après Lustig, seraient cependant parfois immobiles.

III. Genre : LEPTOTHRIX Kutzing

Leptothrix ochracea Kutzing

Très commun dans les eaux contenant du fer où il forme à la surface de l'eau et sur les parois des récipients de petits flocons et de petites taches couleur de rouille, lesquelles

grandissent rapidement et recouvrent bientôt (en 8 ou 10 jours) toute la surface.

Série de fins batonnets, entourés d'une gaine gélatineuse plus ou moins épaisse, dont une extrémité est fixée et l'autre libre, la gaine diminuant d'épaisseur jusqu'à disparaître de la base au sommet ; cette gaine fixe particulièrement les sels de fer et se colore en brun rouge ou brun verdâtre. Certains filaments dépourvus de gaine s'accolent à angle variable de façon à simuler de fausses ramifications. A de certains moments apparaissent de courts bâtonnets mobiles qui sont peut-être des *arthrospores* (Winogradsky).

Zopf considère cette espèce comme un mode d'évolution du *Cladothrix dichotoma* décrit ci-après, tandis que Winogradsky la regarde comme une espèce autonome et légitime.

IV. Genre : CLADOTHRIX Cohn

D'après Macé *(loc. cit.* 2e édition, p. 662) le genre *Cladothrix* se différencie nettement du genre *Leptothrix* par deux caractères principaux : la présence de ramifications vraies et l'absence constante de gaine gélatineuse dans le premier de ces genres.

Cladothrix dichotoma Cohn

Très abondant dans les eaux douces et saumâtres, courantes et stagnantes, particulièrement dans ces dernières lorsqu'elles sont riches en matières organiques.

Forme dans les eaux, lorsqu'il est abondant, des amas floconneux blanchâtres constitués par l'enchevêtrement de très longs filaments immobiles, larges d'environ 0,4 μ et pouvant atteindre jusqu'à 1 millimètre de longueur, à contenu hyalin, droits ou sinueux, quelquefois assez régulièrement ondulés,

ou spiralés dans une certaine étendue (fig. 63), présentant d'après Macé [1] des ramifications vraies (fig. 64).

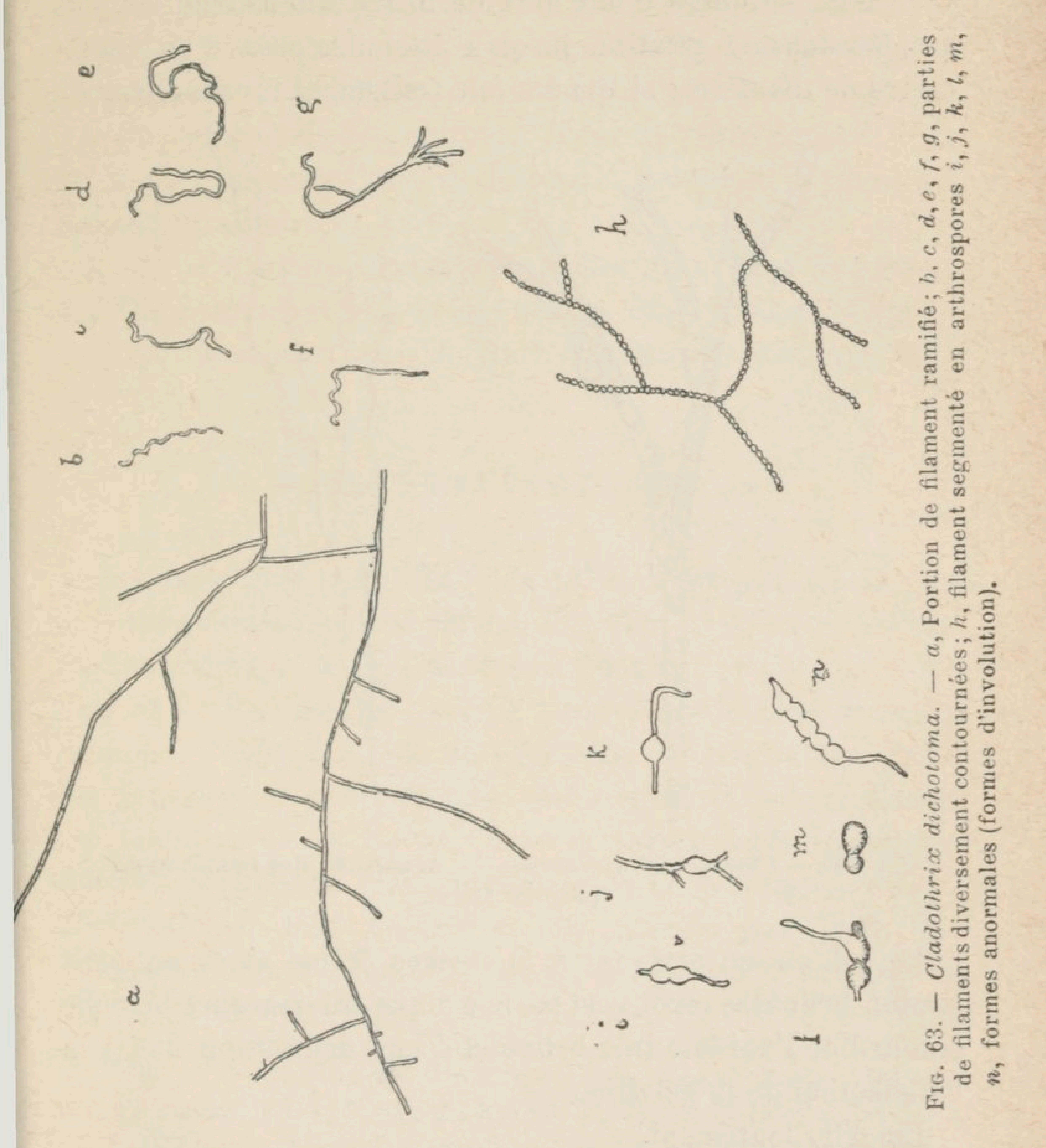


Fig. 63. — *Cladothrix dichotoma.* — *a*, Portion de filament ramifié; *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, parties de filaments diversement contournées; *h*, filament segmenté en arthrospores *i*, *j*, *k*, *l*, *m*, *n*, formes anormales (formes d'involution).

Les filaments se séparent ensuite en articles isolés bacillaires, en virgules ou spirilles qui sont alors mobiles et peuvent se réunir en petits zooglées muqueuses.

Immobile à l'état filamenteux, mobile à l'état bacillaire.

[1] Macé, *Traité pratique de bactériologie*, 2e édit., 1892, p. 663.

Sur plaques. — Apparition des colonies vers le quatrième ou cinquième jour sous forme de très petits points jaunâtres, entourés d'une auréole brune qui s'étend de plus en plus dans la gélatine jusqu'à atteindre près d'un centimètre de diamètre, et qui les fait facilement reconnaître.

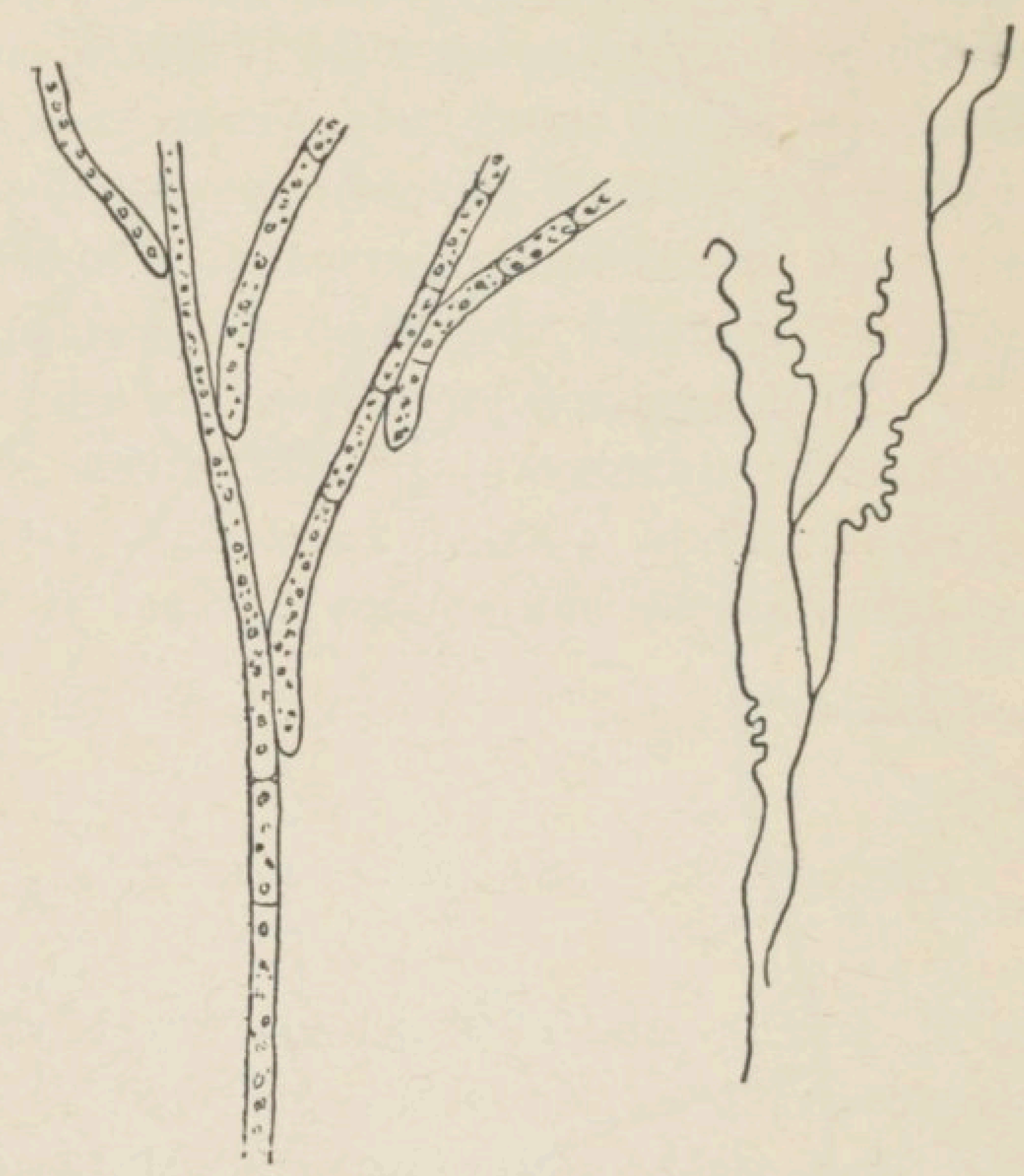


FIG. 64. — *Cladothrix dichotoma.* — Apparition des ramifications (d'après Macé).

La colonie en arrivant à la surface forme alors un petit bouton brunâtre recouvert parfois d'une efflorescence blanche entouré de l'auréole très brune et d'une dépression due à la liquéfaction de la gélatine.

Liquéfie lentement.

Dans le bouillon légers flocons sphériques et teinte brune du liquide [1]. Toutes les cultures dégagent une odeur de moisi.

[1] Pour les caractères de cultures de cette espèce, voir Macé : Sur les caractères des cultures du C. DICHOTOMA *(Compt. rend. Acad. sc.*, 1888).

Détermine la précipitation des sels de fer et des sels de chaux et provoque l'incrustation des canaux de conduite.

Eppinger, de Gray (9e Congrès allemand de médecine interne), at rouvé, à l'autopsie, un *Cladothrix* dans le pus d'un abcès du cerveau et dans les tubercules crétacés du poumon; il a pu, au moyen des cultures pures de cette espèce, produire chez les animaux des lésions ressemblant à de la tuberculose miliaire.

Le G. *Actinomyces* est aujourd'hui placé dans le groupe des *Cladothrix* et Macé *(loc. cit.*, p. 666) propose d'appeler l'*Actinomyces bovis* de Harz *Cladothrix bovis*.

V. Genre : STREPTOTHRIX Cohn

Ce genre, créé par Cohn [1], en 1875, n'est pas admis par tous les auteurs ; les uns (Macé, *loc. cit.*, 2e édit., p. 666) le confondant avec le G. *Cladothrix*, les autres (Dr J.-B. de Toni et V. Trevisan *in Sylloge fungorum de Saccardo)* le nommant *Nocardia*. J'ai eu l'occasion de rencontrer, l'année dernière, au cours de mes recherches microbiologiques sur les eaux de la Saône, dans la traversée de Lyon, des colonies répondant très exactement à la description du G. *Streptothrix*, telle qu'elle a été donnée par MM. V. Gombert [2], Ernst Almquist [3] et G. Gasperini [4]. Les études

[1] Cohn, *Untersuchungen über Bakterien, Beiträge zur Biologie der Pflanzen;* Bd. I, 3, pages 186-188 ; pl. V, fig. 7, Breslau, 1875.

[2] V. Gombert, *Recherches expérim. sur les microbes des conjonctives à l'état normal*, th. Montpellier, 1889.

[3] Ernst Almquist, Untersuchungen über einige Bacteriengattungen mit Mycelien *(Zeitschr für Hygiene.* Bd. VIII, 2 Heft, 2 mai 1890, p. 189) (Octobre 1889).

[4] G. Gasperini, Recherch. morph. et biol. sur un microorgan. de l'atmosphère, le Streptothrix Fœrsteri *(Ann. de micrographie* de Miquel, juillet et août 1890).

très minutieuses auxquelles je me suis livré sur cet organisme, dont la diagnose a été vérifiée par MM. Vaillard (du Val-de-Grâce) et Metschnikoff, n'ont pas encore été publiées, mais je puis dès à présent affirmer, contrairement à l'opinion de Macé, que le genre *Streptothrix*, tel que j'ai pu l'observer, doit être nettement distingué du genre *Cladothrix*. J'ai longtemps cultivé, en effet, parallèlement mon *Streptothrix*, que j'attribue à l'espèce *Fœrsteri*, et le *Cladothrix dichotoma*, et j'ai pu constater des différences fondamentales dans l'aspect des cultures sur les différents milieux, la nature du pigment sécrété, etc. J'insisterai au reste bientôt sur ces différences et je ne veux ici que décrire sommairement, comme je l'ai fait jusqu'à présent, l'espèce que j'ai rencontrée dans les eaux de la Saône.

Streptothrix Fœrsteri Cohn

Trouvé d'abord dans les concrétions du canal lacrymal (Fœrster, Cohn, etc.), sur la conjonctive normale (Gombert), dans le pus d'une méningite cérébro-spinale (Almquist), dans l'air (Gasperini, Almquist ?), dans l'eau de mer (Almquist), dans l'eau douce (Almquist, G. Roux).

Longs filaments[1] à extrémités arrondies, rectilignes, ou plus souvent ondulés ou régulièrement spiralés, de 0,5μ à 0,6μ de largeur, et de longueur extrêmement variable, allant de 4μ et 6μ jusqu'à 92μ et parfois davantage. Souvent il existe de fausses dichotomisations qui constituent un caractère différentiel avec les *Cladothrix*.

[1] J'emprunte à M. le Dr V. Gombert *(loc. cit.)* la description de cette espèce en insistant sur ce fait que c'est lui le premier en France qui l'a cultivé et décrit de très exacte façon. M. Gasperini n'ayant pas dans sa note des *Annales de micrographie* cité ce travail, je suis heureux de réparer ici cet oubli et de rapporter à un Français l'honneur d'avoir le premier bien décrit et figuré une espèce intéressante à tant de points de vue.

Formes involutives variqueuses sur les vieilles cultures. Spores aériennes en chapelet de 0,8 μ de diamètre. Les filaments se fragmentent parfois ; il peut arriver qu'une colonie sporifère ait l'air, au microscope, d'une culture impure présentant à la fois des filaments, des bâtonnets et des cocci (spores), comme l'a indiqué et figuré Gasperini *(loc. cit.*, pl. VII, fig. 3). Pas de mobilité propre.

Sur plaques. — Développement un peu tardif. Au quatrième ou cinquième jour les colonies apparaissent dans l'épaisseur de la gélatine sous forme de petits points nuageux blanc grisâtre, qui, le lendemain, ont parfois 1/4 à 1/2 millimètre de diamètre, deviennent sphériques et atteignent lentement 1 à 2 millimètres. Les petites sphères ont un centre opaque et gris foncé, tandis que la périphérie est demi-transparente et blanche ; la gélatine se déprime bientôt tout autour de la colonie et celle-ci forme alors deux hémisphères, dont l'un reste enfoui dans l'épaisseur de la gélatine, tandis que l'autre proémine au-dessus du godet. Lorsqu'on cherche, au moyen du fil de platine, à saisir un fragment de la colonie, celle-ci est enlevée en bloc, ce qui constitue, d'après M. Gombert, un excellent caractère de diagnose. A un faible grossissement, les colonies apparaissent avec une couleur noirâtre et ont leur périphérie ornée d'une série de sortes de poils courts, irréguliers, raides, qui leur donnent l'aspect d'une châtaigne avec son péricarpe (voir les fig. 3-8 de la planche de Gombert). La gélatine ambiante ne présente pas le pigment brun que l'on rencontre dans les cultures de *Cladothrix*.

Liquéfaction tardive de la gélatine.

Dans le bouillon, la culture est absolument caractéristique ; il se forme au bout de quelques jours, à l'étuve à 37°, des sphères blanches, épineuses, qui flottent dans le liquide ou grimpent le long des parois, se développant parfois même au-dessus du niveau du bouillon contre le verre. Le liquide reste limpide et se fonce légèrement sans prendre jamais la

teinte brune des cultures du *Cladothrix dichotoma.* Les vieilles cultures développent ordinairement une odeur de moisi.

Se cultive assez bien dans l'eau de fontaine stérilisée.

Les expériences de MM. Gombert et Gasperini, comme aussi celles que j'ai instituées l'an dernier, semblent démontrer que, quelle que soit la voie d'introduction, le *Streptothrix Fœrsteri* n'est pas pathogène pour les animaux.

3e Famille BEGGIATOACÉES

A cette famille appartiennent des espèces qui servent en quelque sorte d'intermédiaires entres les Bactéries proprement dites et les Algues plus élevées en organisation. C'est à ce titre que je les décris ici et aussi parce qu'elles sont, pour la plupart, très abondantes dans les eaux.

Les *Beggiatoa*, qui sont très voisines des *Oscillaires*, dont elles diffèrent surtout par l'absence de la *phycocyanine*, se distinguent des *Bactéries* étudiées jusqu'ici en ce qu'elles possèdent deux extrémités nettement différenciées l'une de l'autre, dont l'une est d'ordinaire fixée à un support quelconque et l'autre librement flottante. Enfin, les *Beggiatoa* renferment très fréquemment dans leur protoplasma des granulations de soufre non cristallines et sont les hôtes ordinaires de la plupart des eaux thermales sulfureuses, d'où le nom de *Sulfuraires* sous lequel on les désigne parfois. Elles ont été bien étudiées, surtout dans leurs manifestations bio-chimiques, par Winogradsky [1].

Les *Beggiatoacées* comprennent deux genres principaux : *Beggiatoa* et *Crenothrix*, auxquels on a adjoint le sous-genre *Thiothrix* (Winogradsky).

[1] Winogradsky, Ueber Schwefelbacterien *(Botanische Zeitung*, 1887).

I. Genre BEGGIATOA Trevisan

Beggiatoa alba Vaucher

Espèce très commune dans les eaux sulfureuses froides ou chaudes, les eaux stagnantes impures, les puits et les citernes.

Constitue par sa présence un indice très sérieux de l'impureté de l'eau dans laquelle elle forme des flocons blancs muqueux pouvant s'étendre en larges taches adhérentes aux parois.

Filaments d'un blanc sale de 3 à 4 μ de longueur, courbés en arcs sinueux ou spiralés, libres ou fixés à un support, à extrémité libre arrondie, renfermant de grosses granulations de soufre plus nombreuses à la partie terminale; les filaments sont articulés (v. fig. 52).

Le développement s'opère encore à 55° centigrades.

Les Beggiatoa ou sulfuraires représentent un type d'algues beaucoup plus élevées en organisation que les bactéries et sont voisines des oscillaires dont elles ne diffèrent que par l'absence de la phycocyanine (pigment spécial bleuâtre, dichroïque) et de la chlorophylle.

Sous-Genre THIOTHRIX Winogradsky

Ce sous-genre se distingue du genre principal *Beggiatoa* par l'inégalité d'épaisseur de ses filaments et par la production de *gonidies* mobiles.

Thiothrix nivea

(Beggiatoa nivea, Rabenhorst)

Commun dans eaux sulfureuses ou seulement stagnantes.

Filaments immobiles, entourés d'une mince gaine, fixés à

la base, plus larges à cette base (2 à 2,5 μ) qu'au sommet (1,4 à 1,5 μ), peuvent atteindre 100 μ de long et se segmentent alors à l'extrémité libre ou se constituent successivement des bâtonnets de 8 à 9 μ de long, qui deviennent libres dans le liquide et sont alors mobiles ; c'est là ce que Winogradsky nomme des *gonidies* qui manqueraient absolument dans le vrai genre *Beggiatoa*. Ces gonidies se fixent, perdent leur mobilité et reproduisent des filaments.

Thiothrix Tenuis WINOGRADSKY

Eaux sulfureuses.

Filaments très longs à diamètre presque uniforme de 1 μ d'épaisseur seulement.

Thiotrix tenuissima WINOGRADSKY

Eaux sulfureuses.

Comme son nom l'indique, cette espèce est encore plus ténue que la précédente, ses filaments n'ayant pas plus de 0,5 μ de large.

II. Genre CRENOTHRIX

Ce genre diffère du genre *Beggiatoa* par la présence constante, autour des articles de ses filaments, d'une gaine plus ou moins épaisse qui a une grande affinité pour l'oxyde de fer, qu'elle fixe, et par l'absence, dans son protoplasma, de granulations de soufre.

Crenothrix Kühniana RABENHORST

(Crenothrix polyspora, Cohn)

Très abondant dans les eaux douces stagnantes ou peu courantes assez riches en matières organiques ou en fer.

Assez polymorphe.

Se présente surtout sous forme de filaments droits ou sinueux fixés à un support par une extrémité ou réunis en flocons feutrés ayant jusqu'à 1 centimètre de longueur, 1,5 à 2 μ de largeur à l'extrémité fixée, et 6 à 9 μ à l'extrémité libre, en forme de massue par conséquent, divisés en articles distincts renfermés dans une sorte de gaine commune gélifiée et pouvant devenir libres, et être alors légèrement mobiles; ils forment parfois des sortes de zooglées de cocci (v. fig. 53).

Dans l'eau le Crenothrix forme des masses épaisses colorées en brun ou en verdâtre par l'oxyde de fer, et donne au liquide une teinte roussâtre, une odeur désagréable et un mauvais goût; il peut ainsi altérer dans les réservoirs ou les conduites de grandes masses d'eau à la fois.

BACTÉRIES PATHOGÈNES

Genre MICROCOCCUS

Coccus B Foutin

Cocci grands, ronds, se trouvent par deux ou plusieurs individus unis ensemble, quelquefois disposés en chaînettes.

Sur plaques. — Au sixième jour, colonies rondes, blanches, légèrement proéminentes ; à un faible grossissement, disques homogènes de couleur gris vert jaune, granuleux à la périphérie, à bords aigus, quelquefois frangés.

Trouvé dans l'eau par Foutin (*Centralbl. f. Bakteriologie*, 1890, n° 12).

Est pathogène ; 5 à 7 centimètres cubes de bouillon de culture injectés dans le péritoine tuent en peu d'heures les petites souris blanches ; on retrouve les cocci dans le sang, le foie et la rate.

Micrococcus Biskra (clou de Biskra) HEYDENREICH

Trouvé dans l'eau et l'air de la vallée de Murgab.

Diplocoques capsulés, souvent reliés par deux couples, par leurs faces latérales et ressemblant alors un peu à des sarcines, longs de 0,86 μ à 2 μ, immobiles.

Sur gélatine en piqûre. — A 20-21° centigrades, au bout de quarante-huit heures, le long du canal d'inoculation, masse uniforme blanc grisâtre ou amas de colonies punctiformes. A la surface, pellicule arrondie jaune blanchâtre ; liquéfaction infundibuliforme de la gélatine, débutant trois à quatre jours après l'ensemencement et totale au bout de quatorze jours.

Température optimum = 30° centigrades ; développement rapide.

Liquéfiant.

Les inoculations aux lapins, chiens, poules, chevaux et moutons donnent une lésion cutanée identique à celle de l'homme ; avec doses faibles, maladies chroniques variées.

Par onction de cultures, production chez l'homme d'ulcères et de nodosités.

Micrococcus cereus albus PASSET

Trouvé par Tils dans les conduites de Fribourg (Allemagne.

Gros cocci de 1,16 μ de diamètre, isolés ou plus ordinairement disposés en groupes.

Sur plaques. — D'abord, petits points blancs, qui s'étendent plus tard pour former des gouttelettes, de 1 à 2 milli-

mètres de diamètre, à éclat mat, analogues à de la stéarine ou à de la cire blanche.

Ne liquéfie pas.

Trouvé par Passet dans le pus, mais probablement à titre de parasite du pus, car cette espèce ne semble pas avoir par elle-même de propriétés pyogènes. En raison de cette incertitude, je décris ce microcoque avec les espèces pathogènes.

Staphylococcus pyogenes aureus

(Microbe orangé) ROSENBACH

Fréquent dans les eaux de lavage et le sol (Ullmann).

Cocci de grandeur inégale, en amas, souvent en diplocoques ou très courtes chaînettes de trois, quatre éléments, d'environ 0,87 μ de diamètre moyen.

Immobile.

Sur plaques. — Au deuxième jour, colonies punctiformes de couleur jaunâtre, avec légère dépression tout autour (fig. 65).

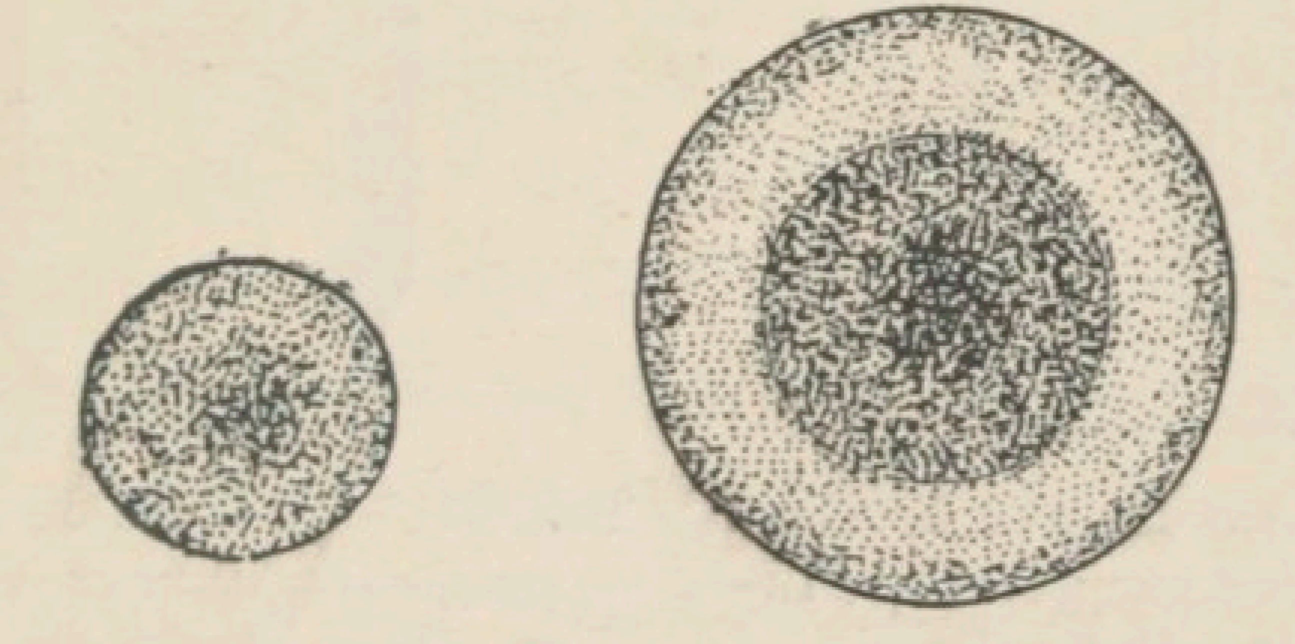


FIG. 65. — *Micrococcus pyogenes aureus.* Cultures sur plaques : 1. Colonie de 48 heures : 2. Colonie de 5 jours.

Température optimum = 30-37° centigrades, développement assez rapide. Aérobie facultatif.

Liquéfiant (fig. 66 et 67).

Accidents très variables chez les animaux suivant le mode d'introduction : abcès, furoncles, ostéomyélites, arthrites

suppurées, affections des reins, myocardite, endocardite ulcéreuse typique (Orth, Wyssokowitsch, Ribbert, Rodet (de Lyon), etc.

Il est intéressant de rappeler ici que c'est dans l'eau de la

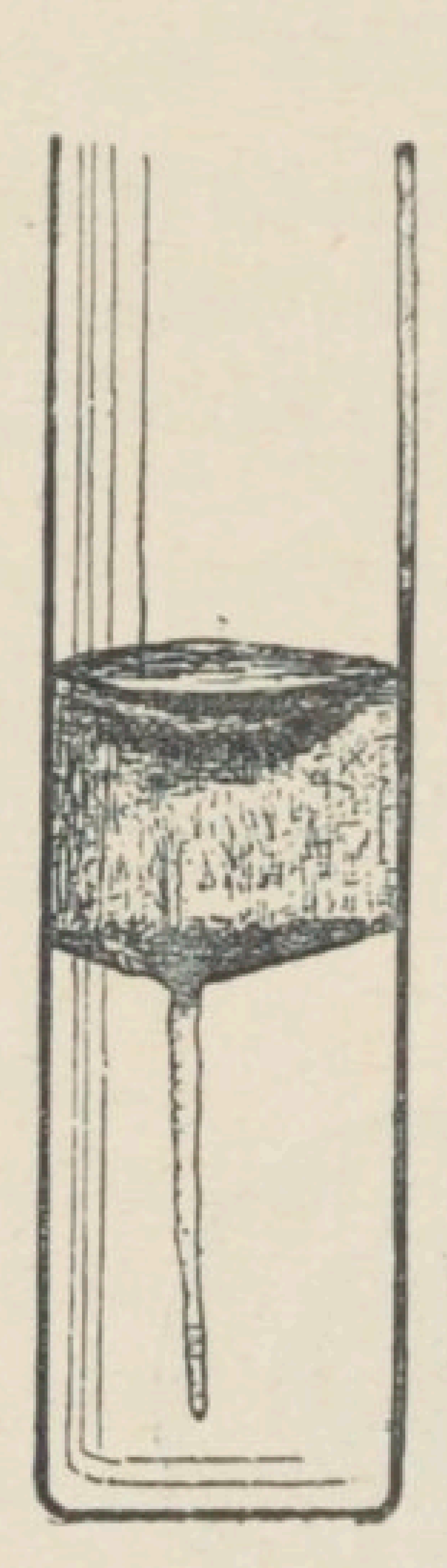


FIG. 66. — Culture de *Micrococcus pyogenes aureus* sur gélatine. Liquéfaction de la gélatine.

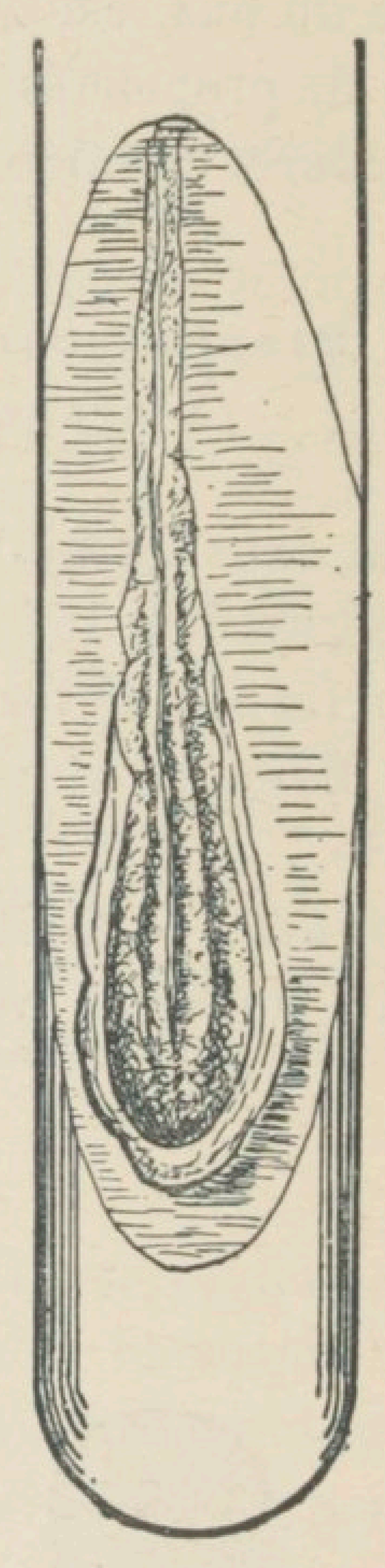


FIG. 67. — Culture de *Micrococcus pyogenes aureus* sur gélatine, en strie. Zone de liquéfaction périphérique.

Seine que Pasteur a trouvé, en 1880, le microbe du furoncle et de l'ostéo-myélite (*Comptes rendus de l'Académie des sciences*, t. LXXXIX, p. 1033).

Genre BACILLUS

Bacillus anthracis Davaine
(Bactéridie charbonneuse)

A été trouvé dans l'eau de certaines prairies par Poincaré [1] et doit certainement exister fréquemment dans les eaux de lévigation des terrains dans lesquels ont été enfouis des animaux charbonneux et dans les ruisseaux alimentés par ces eaux. Au reste, non seulement les *spores* (Kock, Pasteur, Meade-Bolton), mais encore les formes végétatives (bâtonnet et filaments) du *B. anthracis* sont, d'après A. Dubarry [2], capables de vivre très longtemps dans l'eau, même très pure, jusqu'à cent trente et un jours, d'après ce dernier auteur. Il n'est donc pas inutile de savoir rechercher et reconnaître ce microorganisme dans l'eau de boisson de l'homme et des animaux.

Bâtonnets longs de 5 à 6 μ, larges de 1 μ à 1,5 μ, à extrémités paraissant coupées carrément, mais présentant en réalité, à de forts grossissements, une ligne légèrement sinueuse, caractéristique de cette espèce, d'après Koch, isolés, par deux ou plusieurs éléments très nettement articulés. Souvent dans les cultures apparaissent de très longs filaments qui produisent très vite des spores dans leur intérieur (V. fig. 57). Il existe cependant une variété *asporogène*, signalée par Chamberland, E. Roux, Lehmann, qu'il est bon de connaître pour ne pas être exposé à commettre des erreurs.

Absolument immobile. C'est ce caractère qui avait engagé Davaine à séparer le genre *Bacteridium* du genre *Bacte-*

[1] Poincaré, Sur la production du charbon par les pâturages (*Comptes rendus Acad. des sciences*, 1880, XCI, p. 179).

[2] A. Dubarry, *Contribution à l'étude de la vie des microbes pathogènes dans l'eau*, thèse, Paris, 1889.

rium. Dans certaines circonstances, il peut cependant, d'après MM. Arloing et Rodet, acquérir un léger degré de mobilité.

Sur plaques : A 15° centigrades, au bout de vingt-quatre heures, petits points blancs dans la gélatine qui, à un grossissement de 60 diamètres, apparaissent comme autant de petites colonies granuleuses arrondies, de couleur jaune sale, à bords légèrement sinueux. Au bout de trente-six heures, elles ressemblent à une petite masse de fil pelotonné, dans laquelle les filaments sont déjà très reconnaissables avec leurs sinuosités périphériques. Au bout de trois à quatre jours, les colonies ont l'aspect de mèches ondulées de filaments, ressemblant à des cheveux bouclés ou à des flocons cotonneux blanchâtres, plongés dans la gelée transparente (fig. 68).

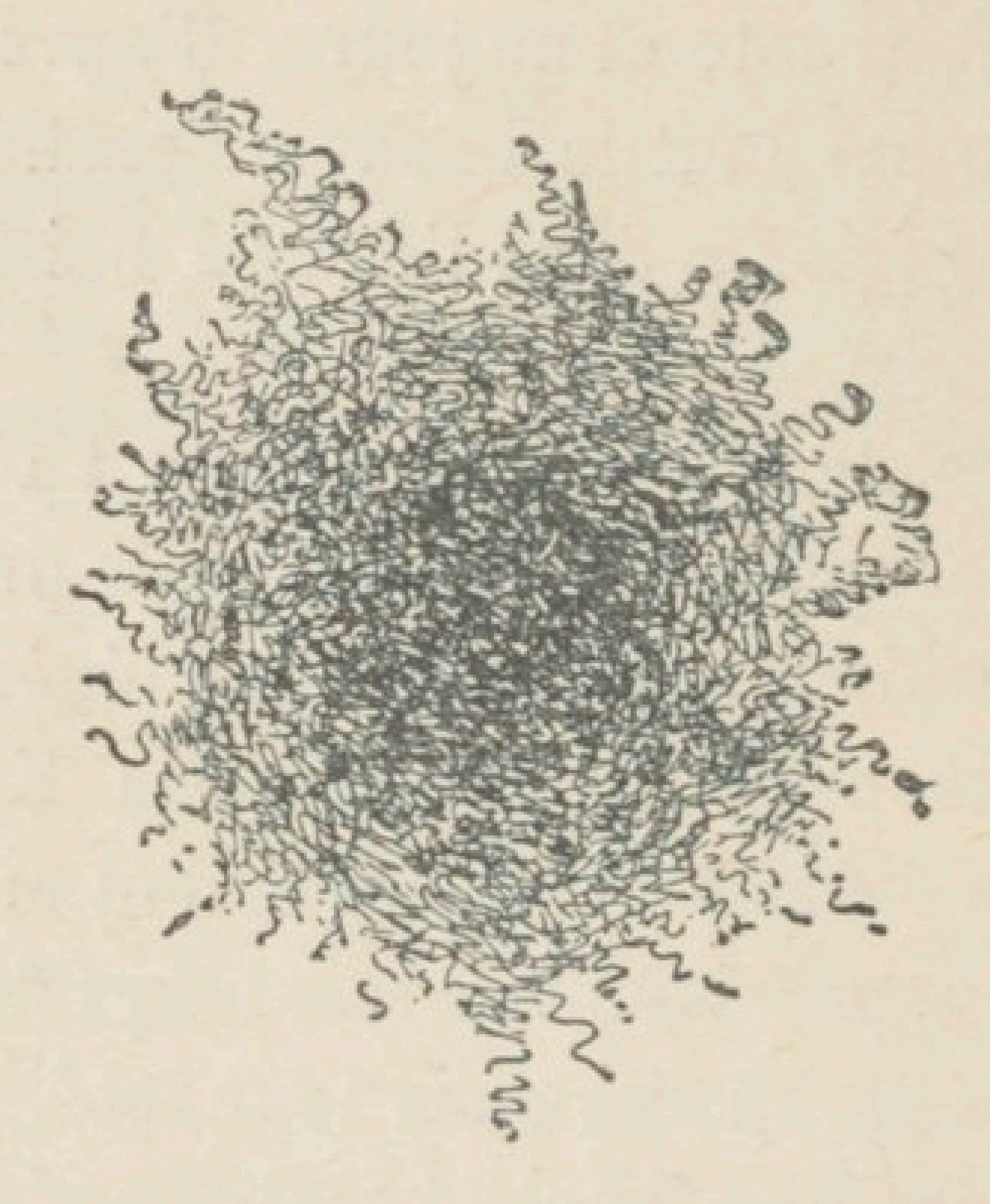


Fig. 68. — Colonie de *B. anthracis* sur plaque de gélatine, après 3 jours. 60/1. D'après photographie.

Dès que les colonies ont atteint 3 à 4 millimètres, la liquéfaction de la gélatine environnante commence. Ensemencé en piqûre sur gélatine, le *B. anthracis* présente un aspect assez caractéristique. Après trente-six heures environ, il se forme, le long du canal d'inoculation, une mince bande blanchâtre d'où partent à angle droit de petits fila-

ments droits, serrés les uns contre les autres et plus développés en longueur dans la partie supérieure (fig. 69).

Ces filaments grandissent peu à peu et envahissent bientôt toute la gélatine qui entoure la piqûre (fig. 70), tandis qu'à la surface de la gélatine il se développe une mince colonie blanchâtre. Enfin, vers le dixième jour, la gélatine se liquéfie progressivement de la surface à la profondeur (fig. 71).

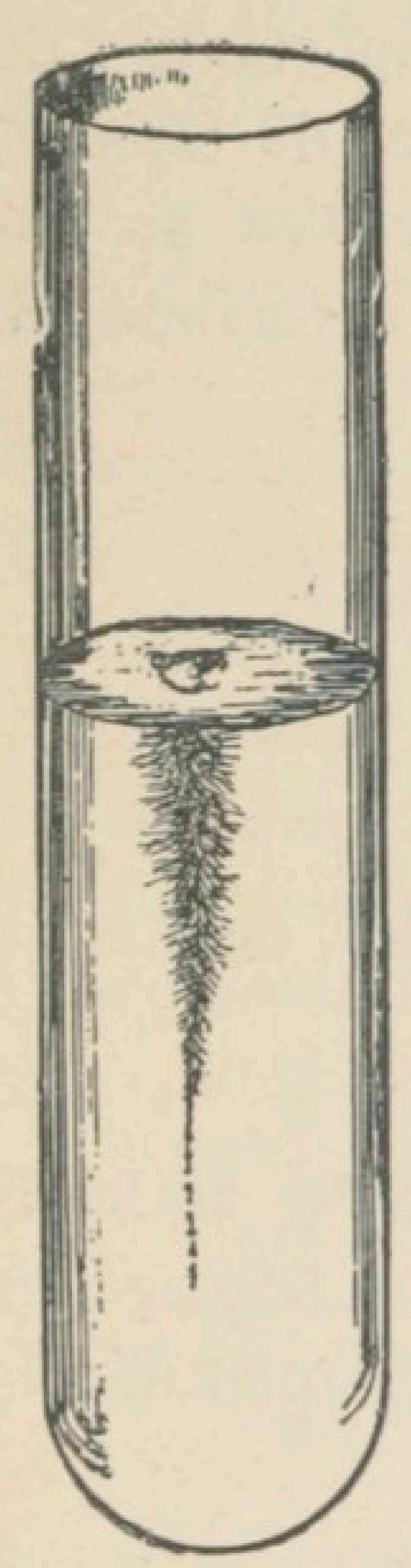


Fig. 69. — Très jeune culture sur gélatine-piqûre de *B. anthracis*.

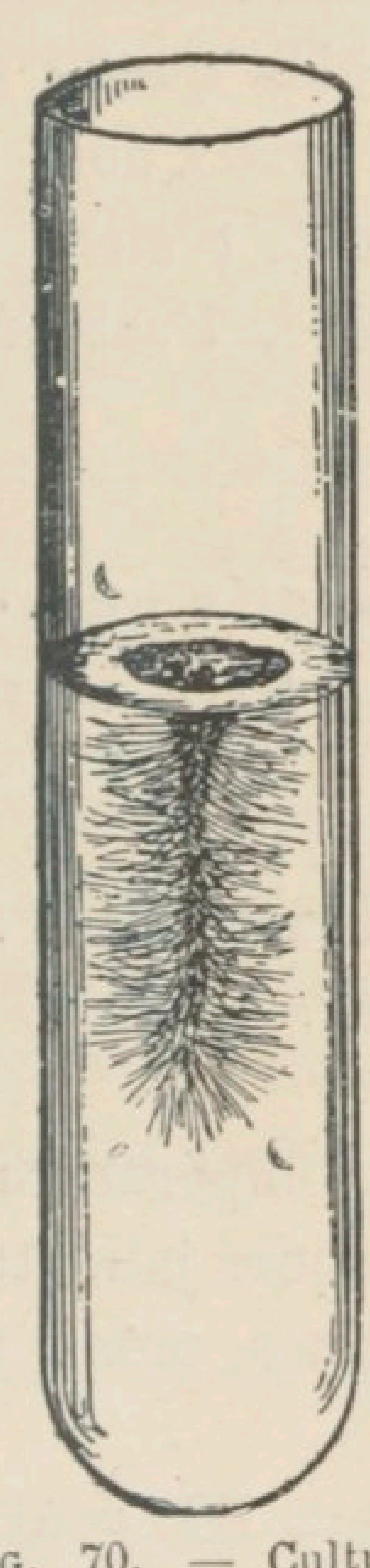


Fig. 70. — Culture plus âgée de *B. anthracis*.

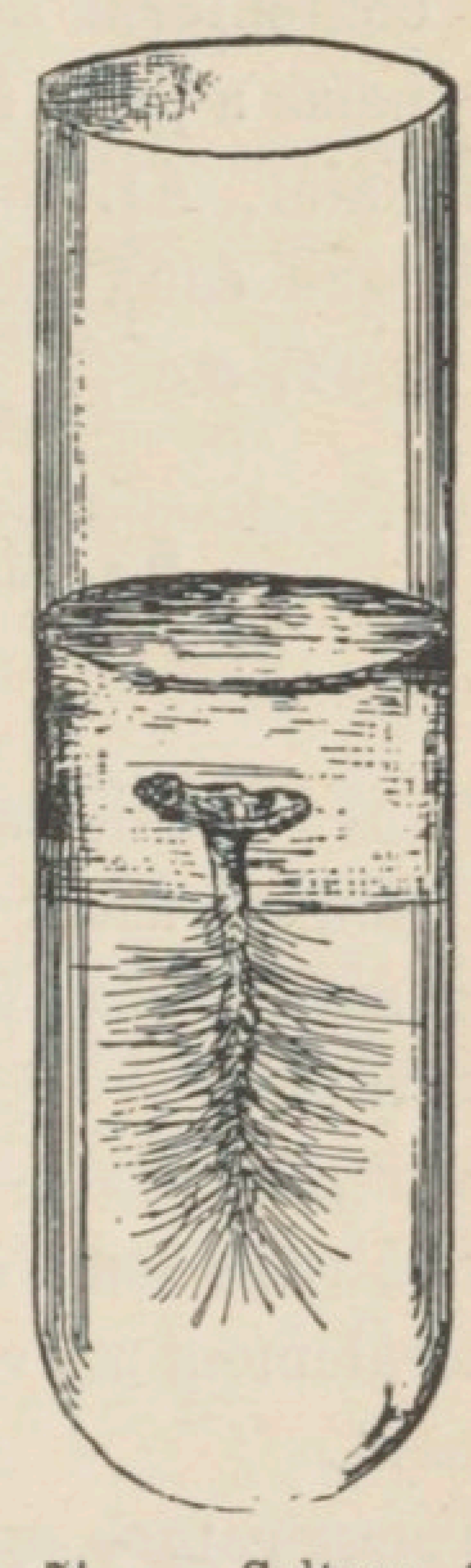


Fig. 71. — Culture âgée de *B. anthracis*; gélatine en partie liquéfiée.

Dans le bouillon, à l'étuve à 30°-35° centigrades, il se forme, en vingt-quatre heures, des flocons blancs, assez denses, qui occupent surtout la surface du liquide et les parois du récipient ; ils restent adhérents ou nagent dans le bouillon, sans troubler la limpidité de celui-ci, puis, enfin, ils se désagrègent et tombent dans le fond du vase, où ils constituent un

sédiment blanchâtre qui, dans les cultures âgées, est presque exclusivement composé de spores.

Liquéfie la gélatine.

Le pouvoir pathogène de cette bactérie, les moyens employés pour l'atténuer ou pour l'exalter ont été étudiés avec trop de soins par un très grand nombre d'auteurs pour qu'il me paraisse utile de m'appesantir ici sur ces particularités si intéressantes de l'histoire biologique du *B. anthracis*. Je me contenterai de rappeler quelle part importante l'Ecole lyonnaise a prise à ces travaux dont les noms de Chauveau, Toussaint, Arloing, Rodet, restent inséparables au même titre que ceux de Davaine, Pasteur, Koch, Chamberland, E. Roux, etc.

Bacillus canalis parvus R. Mori

Bacillus brevis de Lustig.

Dans l'eau de canal.

Bâtonnets assez longs à extrémités arrondies, de 2 à 5 μ de long sur 0,8 μ à 1 μ de larg.

Immobile.

Sur plaques. — A la température ordinaire, au bout de deux à trois semaines, disques jaunâtres pâles, homogènes et généralement microscopiques, même après complet développement.

Température optimum = 37° centigrades.

Développement très lent sur gélatine.

Non liquéfiant.

Forme dans le bouillon un sédiment nébuleux.

Inoculé sous la peau tue les souris en seize à trente secondes, les cobayes en deux jours.

Décrit par Rintaro Mori (*Zeitschr. f. Hygiene*, IV Bd. 1 Heft, 1888).

Bacillus canalis capsulatus R. Mori

Eau de canal.

Bâtonnets elliptiques de 0,9µ à 1,6µ de diamètre, capsulés, mais seulement dans le corps des animaux (la capsule ayant en moyenne 4,5µ de long sur 2,5µ de large), parfois accouplés avec une capsule unique.

Immobile.

Sur plaques. — A la température ambiante, au bout de vingt-quatre heures, colonies d'un blanc de porcelaine, nettement limitées, formant une saillie globulaire.

Température optimum = 35° centigrades.

Développement médiocre, se faisant aussi bien dans le fond qu'à la surface de la gélatine.

Non liquéfiant.

Inoculé sous la peau des souris, les tue en deux ou trois jours, laisse indemmes les cobayes et les lapins, à moins que ces derniers ne soient inoculés dans la cavité pleurale.

Ressemble beaucoup au pneumo-bacille de Friedlander, dont il diffère par son action pathogène.

Bacillus coli communis Escherich

Bacilles de dimensions très variées, pouvant parfois en imposer pour des cocci.

Mouvements ordinairement moins vifs que ceux du Bacille d'Eberth. Ne possède pas de cils (Hueppe).

Sur plaques. — Colonies blanc grisâtre, ayant au début l'aspect d'une montagne de glace, s'épaississant plus tard, devenant plus opaques, à bords découpés et parfois même relevés sous forme d'ourlet.

Ne liquéfie pas.

Température optimum = 37° centigrades.

Développement rapide.

A été trouvé dans l'eau par Macé *(Annales d'hygiène*, t. XIX, 1888) et depuis par un grand nombre d'auteurs. Très fréquent dans les eaux de certains puits de Lyon.

Nettement pathogène pour les animaux et pour l'homme. Peut être pyogène.

Représenterait, d'après MM. Rodet et G. Roux, la forme saprophytique du bacille d'Eberth. Malvoz *(Arch. méd. expérim.*, sept. 1891) se range à cette opinion.

Bacillus cuniculicida (septicémie du lapin) Koch

Trouvé dans l'eau de la Panke.

Probablement identique avec le *Bacille du choléra des poules* dont il a toutes les propriétés.

Bacilles courts à extrémités arrondies, longs de 1,4 µ larges de 0,6 à 0,7 µ ; souvent plusieurs bacilles réunis prennent l'aspect de filaments ou forment un 8 de chiffre.

Immobiles.

Sur plaques. — Au troisième jour petits points blancs qui, grossis, apparaissent comme des colonies rondes avec des contours tranchants, obscurs, irréguliers ; plus tard la colonie se montre comme formée de disques concentriques de différentes couleurs, ceux du centre plus obscurs que ceux de la périphérie ; surface finement granuleuse.

Le développement est très lent dans le bouillon.

Trouvé par Koch *(Mitheil. a. d. K. Ges. Amt.*, Bd. 1) dans l'eau sale de la Panke ; espèce peu répandue.

Pathogène pour les lapins, les souris et les oiseaux.

Bacillus hydrophilus fuscus Sanarelli

Trouvé deux fois dans l'eau et décrit récemment par M. Sanarelli *(Centr. f. Bakteriol. u. Parasit.*, IX, p. 193).

Formes assez variables.

Bacille de 2 à 3 μ de longueur à 12 à 20 μ, et d'autres très courts, cocciformes.

Très mobiles.

Sur plaques. — La liquéfaction extrêmement rapide empêche d'observer les caractères des colonies sur gélatine.

Sur les plaques d'agar les colonies apparaissent au bout de dix-neuf à vingt-quatre heures ; elles sont rondes, régulières, à surface lisse, grisâtre, entourées d'une faible auréole bleuâtre due à des phénomènes de réfraction.

Fluorescence bleuâtre temporaire sur l'agar glycériné.

Sur pommes de terre : Pellicule jaunâtre devenant en quatre ou cinq jours très brune et analogue à celle de la morve et du *B. pyocyaneus ;* pour les différencier entre elles il suffit d'après Sanarelli de laisser tomber sur la culture quelques gouttes de solution de sublimé à 20 pour 1000, la culture du *B. hydrophilus* prend alors une teinte laiteuse un peu rougeâtre dans le milieu, tandis que celle de la morve devient jaune orangé et celle du *B. pyocyanique* bleu-verdâtre.

Ne se développe pas au-dessus de 30° centigrades.

Très pathogène par inoculation intra-parenchymateuse pour les grenouilles, crapauds, salamandres, lézards, barbeaux, anguilles.

Pathogène aussi, mais à des degrés divers pour les animaux à sang chaud : cobayes, lapins, chiens, chats, souris, hérissons, chauves-souris, pigeons, poules, chez ces derniers par injection intra-veineuse ; provoque une putréfaction très hâtive.

Les produits solubles ne sont pas toxiques.

Paraît identique au *B. ranicida* d'Ernst dont il diffère cependant par son action pathogène sur les animaux à sang chaud et par l'innocuité de ses produits solubles.

Bacillus murisepticus (septicémie de la souris) Koch

Trouvé dans l'eau de la Panke.

Très petits bâtonnets de 0,8μ à 1μ de long sur 0,1μ à 0,2μ de large souvent réunis par deux, ressemblent à de petits cristaux en aiguilles.

Immobile.

Sur plaques. — Ne se développe que dans la profondeur sous forme de colonies nuageuses blanchâtres sans limites précises avec une dépression ombiliquée au-dessus.

Développement lent à la température de la chambre.

Aérobie facultatif.

Non liquéfiant.

Inoculé sous la peau tue les souris en quarante ou soixante heures. Exagération de la sécrétion conjonctivale et agglutinement des yeux, abattement, poils hérissés, dos rond.

Bacilles très nombreux dans le tissu cellulaire au lieu d'inoculation, dans le sang et les organes, sont absorbés par les leucocytes qu'ils détruisent. Souris des champs réfractaires.

Bacillus pyocyaneus Gessard

Trouvé par Tils dans l'eau des conduites de Fribourg (Allemagne).

Bâtonnets courts, déliés, réunis quelquefois en filaments, mais le plus souvent en Zooglées.

Très mobiles.

Sur plaques. — Les colonies profondes sont arrondies, jaunâtres avec des sortes de rayons ; au bout de deux jours centre gris, zone foncée, puis à l'extrême bord une autre zone brunâtre avec des sortes de cils fins.

A la surface, cercle ombiliqué de liquéfaction avec centre gris et zone marginale claire, granuleuse, réfractant fortement la lumière, à contour diffus d'où partent des lignes radiaires

souvent sinueuses qui se perdent dans la gélatine ambiante. Celle-ci a une belle fluorescence vert clair.

Liquéfie rapidement.

Ce Bacille paraît identique au *B. pyocyaneus* de Frick et au *B. viscosus* de Frankland.

Les beaux travaux de Charrin en France m'engagent à placer ce bacille parmi les microbes pathogènes de l'eau puisque la maladie pyocyanique a aujourd'hui sa place dans le cadre nosologique.

J'ai rencontré, il y a quelques mois, ce bacille à l'état de culture presque pure et pendant plusieurs semaines dans la bouche d'une malade du service de M. le professeur Joseph Teissier à l'Hôtel-Dieu de Lyon, atteinte d'une grippe très grave.

MM. Guignard et Charrin ont étudié avec grand soin le polymorphisme expérimental de cette espèce *(Compt. rend. Acad. sciences*, 5 décembre 1887).

Bacillus saprogenes II Rosenbach

Trouvé par Tils dans l'eau de Herdern.

Petits bâtonnets très grêles.

Sur plaques. — Colonies profondes jaunes réunies en forme de ballots; colonies superficielles épaisses, muqueuses, à bord lisse avec lignes radiaires. Le mucus de la Zooglée est si épais et si ferme que la colonie se laisse enlever d'un seul coup avec une aiguille.

Développe à l'air une odeur très forte de sueur des pieds.

A une action pyogène.

Anaérobie facultatif.

Bacille typhique Eberth-Gaffky

Se trouve dans un certain nombre d'eaux polluées par les excréments des typhiques.

Bacilles ordinairement trois fois plus longs que larges, à

extrémités arrondies, mais peuvent suivant les milieux se développer en très longs filaments ou rester à l'état de très courts bâtonnets pouvant parfois en imposer pour des cocci; ont une phase sporifère bien étudiée par Gaffky (fig. 72).

Très mobiles. Possèdent d'après Zœffler *(Centr. f. Bakt. VI)* des cils qui font défaut chez le *B. coli communis* (principal caractère différentiel).



Fig. 72. — *Bacille typhique* avec spores, d'après Chantemesse et Widal.

Sur plaques. — Colonies tout à fait superficielles blanc grisâtre à bords dentelés; à un faible grossissement on constate une sorte d'entrelacement analogue à celui de la laine de verre, à éclat brunâtre.

Température optimum = 30°-35° centigrades.

Développement lent.

Non liquéfiant.

Aérobie facultatif.

Inoculé dans la veine des lapins amène la mort en vingt-quatre ou vingt-huit heures (Fränkel et Simmonds). Inoculé par la bouche fait aussi périr les cobayes (Seitz [1]).

1 Alors que ce livre était sous presse et en partie imprimé, de nouveaux procédés, pour déceler dans l'eau le *bacille d'Eberth* ont été indiqués. Je signalerai parmi eux les modifications apportées à sa méthode originelle par M. Chantemesse et décrites par lui dans le tome Ier du *Traité de médecine* de MM. Charcot, Bouchard et Brissaud à la note des pages 736 et 737, note à laquelle je renvoie le lecteur, il a notamment ajouté à la gélatine phéniquée du suc de pomme de terre préconisé déjà par Holtz. Tout récemment M. Uffelmann (*Berlin. klin. Woch.* 31 août 1891) recommande pour la recherche

Proteus vulgaris Hauser

Bacillus proteus Zimmermann.

Trouvé dans l'eau par Zimmermann.

Bâtonnets un peu courbés de 0,6μ de large avec une longueur très variable, pouvant aller jusqu'à 3,75μ. Parfois

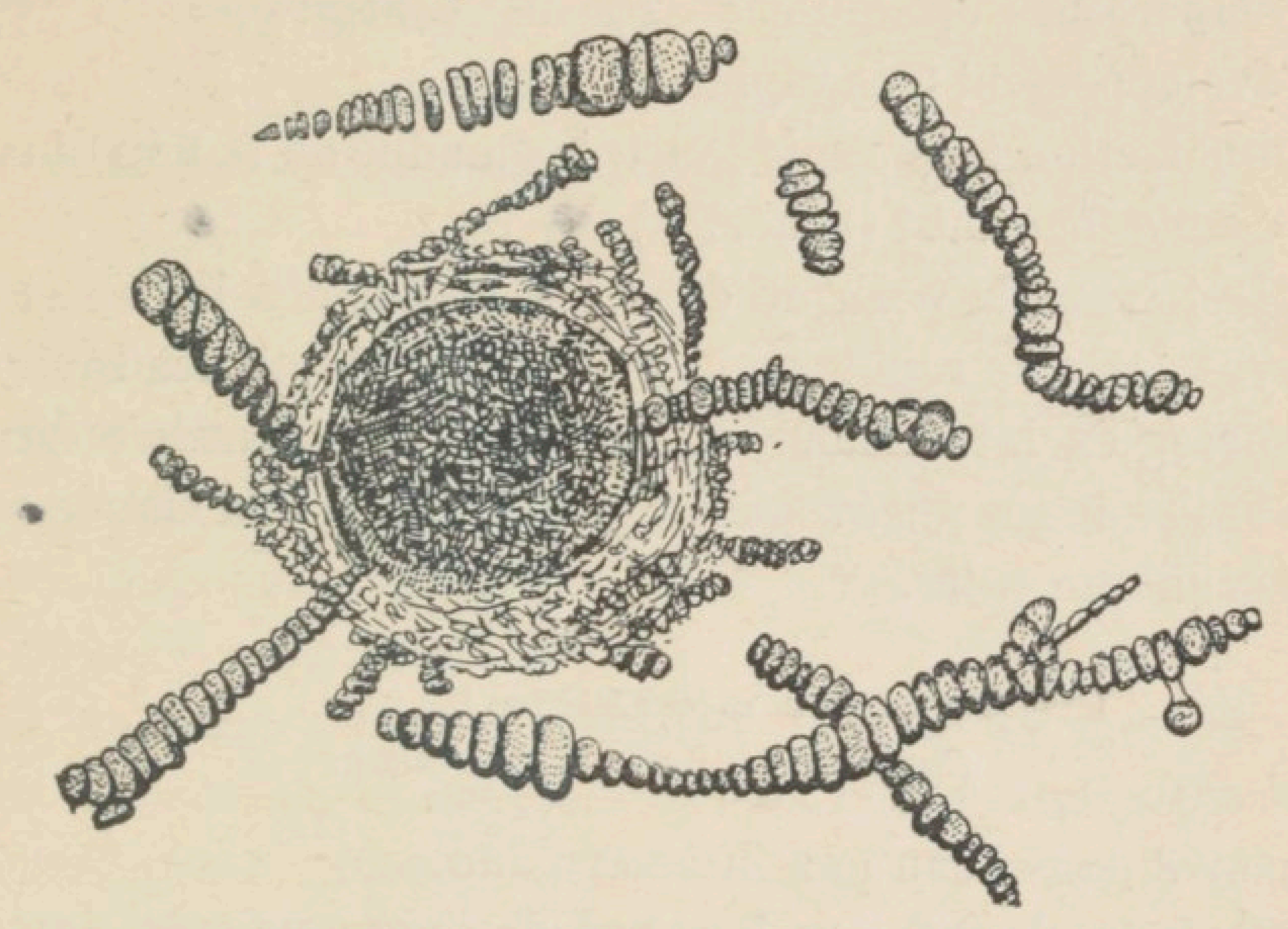


Fig. 73. — Colonie de Proteus sur plaques de gélatine.

filaments sinueux et contournés, tressés; formes d'involution fréquentes.

Très mobile, longs cils.

du bacille typhique de se servir de gélatine peptone ordinaire acidifiée avec de l'*acide citrique* (de façon à ce que 10 centimètres cubes de cette gélatine soient neutralisés par 14 centimètres cubes de solution de carbonate de soude à 0,53 pour 100), et additionnée de *violet de méthyle* dans la proportion de 25 milligrammes pour 10 centimètres cubes de gélatine. Le bacille d'Eberth se développe sur ce milieu plus facilement et plus rapidement que les autres microorganismes et ses colonies se teignent en bleu très intense.

Je dois ajouter enfin que MM. Stahl, Pfeffer et Ali-Cohen utilisent les propriétés *chimiotactiques* des microbes pour les séparer les uns des autres, il y aura à tenir compte de leurs observations dans les recherches qualitatives et notamment dans la mise en évidence du bacille d'Eberth.

Sur plaques. — Tache brun jaune, velue, comme garnie sur les bords de touffes de poils, située au milieu d'un espace liquéfié qui s'étend bientôt sur toute la gélatine en formant des figures à courbes sinueuses très remarquables (fig. 73); souvent dans l'épaisseur de la gélatine, formes spéciales de zooglées.

Température optimum = 20°-24° centigrades.

Développement très rapide.

Liquéfaction très rapide et très étendue de la gélatine.

Aérobie facultatif (Liborius).

Injecté sous la peau ou dans les veines des lapins et des cobayes les tue rapidement avec des symptômes toxiques. Hémorragies intestinales et pulmonaires, diarrhée séreuse avec bulles de gaz; provoque la putréfaction de la viande aussi bien crue que cuite.

Proteus mirabilis Hauser
Bacillus mirabilis Zimmermann.

Trouvé dans l'eau par Zimmermann.

Bâtonnets de 0,6 μ de large et de longueur très variable depuis 0,7 μ jusqu'à 2 μ et même 3,7 μ; formes d'involution en forme de globes ou de poires très fréquentes, ayant de 3,75 μ à 7 μ de diamètre.

Mobile.

Sur plaques. — Tache blanc brunâtre arrondie, finement granuleuse sous un faible grossissement, formant comme des escaliers à la périphérie, à bords ondulés et sinueux d'où se détachent des prolongements errants mobiles, moins cependant que ceux du *P. vulgaris.*

Zooglées.

Température optimum = 20°-24° centigrades.

Développement rapide.

Liquéfie la gélatine, mais plus lentement que le *P. vulgaris.*

Anaérobie facultatif.

Injecté sous la peau ou dans les veines des lapins et des

cobayes les tue assez rapidement ; détermine la putréfaction des tissus animaux et sécrète une toxine très énergique qui tue les petits animaux avec les symptômes de l'intoxication putride.

Genre SPIRILLUM

Spirillum choleræ Koch

Bacille virgule du choléra asiatique, Kommabacillus.

Trouvé dans l'eau aux Indes (Koch) à Marseille (Nicati et Rietsch).

Bacilles courbes ayant 1/2 ou 1/3 de la longueur des bacilles de la tuberculose, souvent réunis en demi-cercle ou en S ou en longues spirales, analogues à celles du Spirochœte de la fièvre récurrente.

Très mobiles, flagelles ondulés, une fois et demi longs comme les bacilles, ayant 1/5 à 1/8 de leur épaisseur, à une des extrémités (Löffler).

Sur plaques. — Colonies à contours plus ou moins irrégulièrement limités, sinueux, dentelés par place, à aspect granuleux.

Colonies superficielles très jeunes aplaties et à léger reflet rouge rose.

Plus tard liquéfaction en entonnoir ne s'étendant pas beaucoup.

Température optimum = 30°-40° centigrades.

Développement rapide.

Aérobie facultatif.

Liquéfiant.

Cultures dans le bouillon injectées dans l'estomac des cobayes en même temps que teinture d'opium et carbonate de soude donnent résultats positifs (Koch) il est en de même de l'injection dans l'intestin grêle après ligature du cholédoque (Nicati et Rietsch).

Bien que ce Précis soit, comme on a pu le voir, exclusivement consacré à l'étude des méthodes et des procédés de l'*analyse microbiologique des eaux* considérée de façon générale, et qu'il n'entrât pas dans ma pensée d'étudier en particulier chacun des groupes d'eaux : potables, industrielles, résiduelles, etc., que le bactériologue peut avoir à examiner, je crois devoir néanmoins, en raison de leur importance toute spéciale et parce que cette question est à l'ordre du jour, dire quelques mots des analyses qui portent sur les eaux minérales.

Ces analyses dans ces dernières années se sont singulièrement multipliées en France et à l'étranger, et bien des noms seraient à citer depuis celui de Malpert-Neuville[1] qui un des premiers étudia au point de vue bactériologique les eaux minérales de Schlangenbad, de Schwalbach, de Soden et de Weilbach jusqu'à ceux du professeur Poncet (de Vichy) et de MM. Roman et Collin, pharmaciens militaires, qui, cette année même, ont cherché les uns et les autres à établir le bilan microbique des eaux de Vichy.

Si je résume brièvement ici les travaux de ces derniers auteurs, c'est dans le but de montrer quelles indications précieuses l'analyse bactériologique peut parfois fournir non seulement au médecin, mais encore à l'architecte, à l'ingénieur, voire même au propriétaire ou au directeur d'un établissement thermal.

M. Poncet[2], d'une part en effet, et MM. Roman et

[1] Robert de Malpert-Neuville, *Examen bactériologique des eaux naturelles*, Paris, 1887.

[2] F. Poncet (de Vichy), *Les Microbes de l'eau de Vichy*, 2e mémoire, Paris, 1891. — Voir aussi Soc. biol., et *Bull. méd.*, 1889.

Collin[3] de l'autre, malgré quelques divergences d'intérêt secondaire et des écarts dans leurs résultats analytiques semblant tenir surtout aux époques auxquelles leurs travaux respectifs ont été effectués, arrivent les uns et les autres à cette conclusion que, si l'eau des sources de Vichy qui, théoriquement devrait être amicrobique à son lieu d'émergence, est peuplée de germes bactériens en quantité parfois énorme, dans les bouteilles surtout, cela tient à des défectuosités matérielles qu'il serait possible d'éviter.

Evidemment, sans les analyses quantitatives comparatives faites par ces expérimentateurs, l'attention n'aurait jamais été attirée sur ces défectuosités et les malades auraient continué à boire, non point toujours sans inconvénients, de l'eau minérale renfermant jusqu'à 572.000 (eau de la grande grille après 48 heures de bouteille, Roman et Collin) et même 694.000 microbes par centimètre cube (eau de l'hôpital après 48 heures de bouteille, Roman et Collin). Aussi M. le Dr Poncet, qui cependant a obtenu presque constamment des chiffres inférieurs à ceux de MM. Roman et Collin, formule-t-il d'énergiques conclusions dans lesquelles il demande très justement toute une série de modifications, de réfections ou de précautions destinées à rendre à l'eau minérale de Vichy sa pureté microbique initiale.

Il est même beaucoup plus exigeant pour ce qu'il appelle le *coefficient de tolérance des microbes* que MM. Reinl[1] et Minges[2] qui admettent que les sources

[3] Th. Roman et E. Collin, Recherches bactériologiques sur les eaux minérales de Vichy, etc. *(Ann. de méd. thermale*, 1891).

[1] Reinl, Die gebrauchlichsten kohlen Saureartigen, etc. *(Wiener medizinische Wochensfchrift*, nos 22 et 23, 1888).

[2] G. Minges, Bactériol. examinat. of nineteen american mineral Waters, etc. *(The Journ. of Am. med. Associat.*, Chicago, 1889).

d'eau minérale peuvent renfermer jusqu'à 50 bactéries par centimètre cube et les bouteilles 250, car il ne veut pas que ces chiffres dépassent 10 dans le premier cas et 20 dans le second. Je ne peux qu'approuver la juste sévérité de M. le Dr Poncet, mais j'ai bien peur que dans la pratique il n'éprouve trop souvent des désillusions, surtout en ce qui concerne l'eau transportée.

Pour justifier cette crainte, je n'ai qu'à invoquer les très intéressants tableaux, dus à Reinl et à Minges et reproduits dans le second mémoire de M. le Dr Poncet, sur la richesse microbienne des principales eaux minérales d'Allemagne et d'Amérique. On y verra combien sont loin du *desideratum* ci-dessus formulé, la plupart de ces sources qui, cependant de l'avis même de M. Poncet, sont surveillées avec le soin le plus jaloux.

Je n'insisterai pas davantage sur les eaux minérales dont l'*analyse bactériologique* comme celle aussi de la neige, de la glace et de la grêle, se pratique en somme par les mêmes procédés que ceux précédemment énumérés et dont la flore a la plupart de ses représentants indiqués parmi les espèces dont j'ai donné la description.

Encore une fois, ce Précis doit conserver son caractère de Manuel de *technique générale* et remplira, je l'espère, malgré d'inévitables et nécessaires lacunes, le but que je m'étais proposé d'atteindre.

FIN

INDEX ALPHABÉTIQUE

FIN DE LA TABLE ALPHABÉTIQUE

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE III

CHAPITRE IV

CHAPITRE V

CHAPITRE VI

CHAPITRE VII

CHAPITRE VIII

CHAPITRE IX

Lyon. — Imp Pitrat aîné, A. Rey successeur, rue Gentil. — 3143

MANUEL D'ASEPSIE

LA STÉRILISATION ET LA DÉSINFECTION PAR LA CHALEUR

APPLICATIONS A LA CHIRURGIE, A L'OBSTÉTRIQUE ET A LA MÉDECINE

Par le docteur VINAY

Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Lyon,
médecin de l'Hôtel-Dieu.

1 volume in-18, de 532 pages, avec 74 figures, cart. . 8 fr.

Ce volume fait partie de la *Bibliothèque du Médecin praticien*.

Le *Manuel d'asepsie* de M. Vinay contribuera à la vulgarisation de connaissances et de ressources qui désormais s'imposent aux étudiants, aux médecins, aux administrateurs, à tous les établissements hospitaliers et sanitaires ; il réunit, sous une forme condensée et dans un ordre qui rend les recherches faciles, un nombre considérable de documents éparpillés jusqu'ici dans les collections de journaux ou dans des ouvrages trop étendus. En outre, une critique judicieuse des divers appareils ou procédés préconisés permet de choisir ceux qui conviennent le mieux dans telles conditions déterminées. Nous félicitons l'auteur de la tâche qu'il s'est imposée et de la façon parfaite dont il l'a remplie.

E. VALLIN, *Revue d'hygiène*, 20 décembre 1890.

Le livre de M. C. Vinay est excellent ; il est fait avec soin et l'auteur s'y montre absolument au courant de la science. C'est un livre pratique qui est à la portée de tous ; c'est, pour le moment, le guide le meilleur et le plus sûr que nous ayons entre les mains. Tous les praticiens devraient posséder ce petit manuel, à commencer par les médecins de campagne qui montrent souvent trop de confiance dans les avantages naturels des milieux dans lesquels ils exercent leur art et qui, comme j'en ai vu de malheureux exemples, ne laissent que trop de malades succomber à la septicémie puerpérale ou à l'infection post-opératoire.

Pierre SEBILEAU, *Gazette médicale de Paris*, 17 janvier 1891.

Le *Manuel* de M. Vinay est excellent.

Union médicale, 9 novembre 1890.

ENVOI FRANCO CONTRE UN MANDAT SUR LA POSTE

NOUVEAUX ÉLÉMENTS
DE
PATHOLOGIE MÉDICALE

PAR LES DOCTEURS

A. LAVERAN
Professeur à l'École de médecine
et de pharmacie
militaire du Val-de-Grâce.

ET

J. TEISSIER
Professeur à la Faculté de médecine
de Lyon
Médecin de l'Hôtel-Dieu

Troisième édition. 2 volumes in-8 de 1700 p. avec fig. 20 fr.

Il m'est impossible d'analyser suffisamment une telle œuvre, devenue classique aujourd'hui et dont le succès est affirmé par les éditions successives qu'elle a eues en si peu de temps.

Professeur BOUCHARD, *Académie de médecine*, 23 octobre.

L'éloge de ce livre n'est plus à faire, depuis neuf ans le temps a consacré son succès. Les auteurs le destinaient aux commençants, qui ont besoin de trouver réunies et condensées dans un même ouvrage les acquisitions diverses de la pathologie, de l'anatomie pathologique, de la bactériologie, de la thérapeutique et de la clinique. Dans toutes ces branches, tel a été le soin qu'ils ont mis à se tenir au courant des découvertes récentes, que leur traité est aujourd'hui le résumé le plus exact et le plus complet que nous possédions en France. Devenu classique, c'est un livre utile pour ceux mêmes qui, suivant jour par jour le mouvement scientifique, aiment pourtant à trouver condensées en de courts chapitres toutes les notions qu'ils avaient rencontrées éparses dans les journaux et les Revues. La bibliographie si complète, qui termine chaque article, permet de remonter aux sources, et donne l'indication des grands traités et des publications principales. C'est à la fois un guide précieux pour diriger son travail et ses lectures, et un memento où on retrouve indiqué d'un mot tout ce qu'on a pu lire, tout ce qui a été dit et publié sur chaque question.

Nous n'avons pu qu'esquisser sommairement les grandes lignes de ce travail, mais on concevra sans peine son importance. C'est le premier traité où des vues d'ensemble aussi hardies aient été exposées.

La Province médicale, 29 septembre.

Parmi les additions à cette édition, nous citerons les dernières recherches sur les microbes de la fièvre typhoïde, du paludisme, etc. ; l'indication des conquêtes de la bactériologie dans le champ de la pathologie du poumon, l'application de ces notions nouvelles à l'étiologie de la coqueluche, de la diphtérie, de la pneumonie, de la phtisie pulmonaire, etc. ; l'étude des acides de l'estomac, des changements fondamentaux aux maladies des reins, etc.

ENVOI FRANCO CONTRE UN MANDAT SUR LA POSTE

Lyon. — Imp. A. Rey, 4, ru…





